



## Banque Nationale de Gènes de Tunisie BNGT

### Projet : Valorisation des espèces végétales autochtones Siciliennes et Tunisiennes avec un intérêt nutritif et bon pour la santé « ESPAS »

Groupe de Tâche 3: Recherches et Analyses pour la Définition de  
Protocoles Scientifiques d'Espèce Végétales autochtones à haute valeur  
Nutraceutique et de Santé dans la zone de coopération

### Rapport Intermédiaire n°4

### R 3.2 La détermination quali-quantitative des composés bioactifs des espèces végétales.



Valorisation des espèces végétales  
autochtones SICILIENNES & TUNISIENNES  
avec un intérêt nutritif et bon pour la santé

**Pr. M'barek Ben Naceur (BNGT)**  
**Dr. Awatef Rhimi (BNGT)**  
**Dr. Neila Jellouli (BNGT)**  
**MSc. Sonia Hjaoujia (BNGT)**  
**Dr. Saloua Ouerghemmi (BNGT)**

Banque Nationale de Gènes de Tunisie BNGT  
Boulevard du Leader Yasser Arafat, 1080 Charguia 1, Tunis  
Tél 1: 0021671771756  
Tél 2: 0021671771678  
Fax: 0021671771827  
Mail: [bng@bng.nat.tn](mailto:bng@bng.nat.tn)  
Site Web: <http://www.bng.na.tn>



# Sommaire

<b>Introduction Générale.....</b>	<b>5</b>
<b>A. Détermination quali-quantitative des composés bioactifs du genre <i>Origanum</i>.....</b>	<b>6</b>
<b>I. Matériel végétal .....</b>	<b>6</b>
<b>II. Méthodologie expérimentales de l'étude.....</b>	<b>7</b>
1. Extraction des huiles essentielles .....	7
1.1. Extraction par macération à l'hexane.....	7
1.2. Extraction par Clevenger.....	8
<b>III. Résultats .....</b>	<b>8</b>
1. Etude des huiles essentielles du genre <i>Origanum</i> .....	8
1.1. Extraits volatils issus par macération à l'hexane.....	8
1.1.1. Rendements.....	8
1.1.2. Identification des chémotypes.....	9
1.2. Huiles essentielles d' <i>Origanum</i> sp. issus par extraction par Clevenger...10	
1.2.1. Rendements .....	10
1.2.2. Composition en huiles essentielles .....	10
<b>IV. Conclusion.....</b>	<b>11</b>
<b>B. Détermination quali-quantitative des composés bioactifs du genre <i>Rosa</i>.....</b>	<b>12</b>
<b>I. Matériel végétal .....</b>	<b>12</b>
<b>II. Méthodologie expérimentales de l'étude.....</b>	<b>12</b>
1. Extraction des huiles essentielles .....	12
1.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	12
2. Extraction des molécules bioactives .....	13
3. Détermination qualitative et quantitative des composés bioactifs .....	13
3.1. Dosages spectrophotométriques.....	13
3.1.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC) .....	13
3.1.2. Dosage des chlorophylles, $\beta$ -carotène et caroténoïdes totaux.....	14
3.1.3. Teneur en anthocyanes totaux.....	14
3.2. Analyses chromatographiques.....	14
3.2.1. Analyses qualitatives et quantitatives par HPLC/DAD.....	14
3.2.3. Analyses qualitatives et quantitatives des huiles essentielles par GC/FID et GC-MS.....	15
3.3. Dosages des sucres solubles.....	16
<b>III. Résultats.....</b>	<b>16</b>
1. Etude des huiles essentielles .....	16
1.1. Huiles essentielles des fleurs.....	16
1.2. Huiles essentielles des feuilles.....	17
1.3. Huiles essentielles des tiges.....	18



2. Etudes des composés bioactifs des rosiers.....	18
2.1. Rendement en composés bioactifs des rosiers.....	18
2.2. Teneur en Chlorophylles, $\beta$ -carotènes et caroténoïdes totaux.....	19
2.3. Teneur en sucre.....	20
2.4. Teneur en anthocyanes.....	21
2.5. Teneurs en polyphénols totaux.....	21
2.5.1. Organes végétatifs de <i>Rosa sp.</i> .....	21
2.5.2. Cynorrhodons de <i>Rosa sp.</i> .....	21
2.6. Teneur et composition phénolique.....	22
<b>IV. Conclusion.....</b>	<b>24</b>

## **C. Détermination quali-quantitative des composés bioactifs du genre *Capparis*.....26**

<b>I. Matériel végétal .....</b>	<b>26</b>
<b>II. Méthodes expérimentales.....</b>	<b>27</b>
1. Préparations des extraits organiques et aqueux .....	27
2. Caractérisation des acides gras.....	27
2.1. Préparation et extraction des lipides totaux .....	27
2.2. Préparation d'esters méthyliques d'acides gras.....	27
2.3. Identification des acides gras par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC-MS) .....	28
3. Calcul du rendement .....	28
4. Dosage des composés phénoliques.....	28
4.1. Dosages des polyphénols totaux .....	28
4.2. Dosages des flavonoïdes totaux.....	29
4.3. Dosages des flavonols.....	29
4.4. Dosages des tannins condensés .....	29
4.5. Dosage des chlorophylles, $\beta$ -carotène et caroténoïdes totaux.....	30
4.6. Teneur en anthocyanes totaux.....	30
4.7. Dosages des sucres solubles.....	30
5. Analyse statistique des résultats .....	31
<b>Résultats...31</b>	
1. Evaluation biochimique de <i>Capparis spinosa</i> subsp. <i>spinosa</i> L. et <i>Capparis spinosa</i> subsp. <i>rupestris</i> L. ....	31
1.1. Composition chimique des acides gras.....	31
1.2. Teneurs en composés phénoliques .....	34
1.3. Teneurs en flavonoïdes totaux et en flavonols.....	35
1.4. Teneurs des tannins condensés .....	37
1.5 Teneur en Chlorophylles, $\beta$ -carotènes et caroténoïdes totaux.....	37
1.6 Teneur en sucre.....	38
<b>III. Conclusion.....</b>	<b>38</b>



## Liste des Figures

**Figure 1 :** Feuilles d'*Origanum* (A) et Fleurs d'*Origanum* (B).

**Figure 2 :** Broyage des feuilles et des fleurs d'*Origanum*.

**Figure 3 :** Extraction de la fraction volatile par macération à l'hexane

**Figure 4 :** Extraction des huiles essentielles par cleverger

**Figure 5 :** Feuilles de *Rosa* (A), Réceptacles (B), Pétales (C) et cynorrhodons de *Rosa sp* (D).

**Figure 6 :** Teneurs en Chlorophylles a (Cla) et b (Clb) (1 et 2), en  $\beta$ -carotène (1 et 2) et en caroténoïdes totaux (TCT) (3) chez *Rosa sempervirens* (1 et 3) et *Rosa canina* (2 et 3)

**Figure 7:** Teneur en sucre des péricarpes de *Rosa canina* et *Rosa sempervirens*

**Figure 8:** Teneur en anthocyanes des cynorrhodons de *Rosa canina* et *Rosa sempervirens*

**Figure 9:** Teneurs en polyphénols totaux des extraits organiques des feuilles et de tiges de *Rosa canina*, *Rosa sempervirens* et *Rosa moschata*

**Figure 10:** Teneurs en polyphénols totaux des extraits organiques des péricarpes et des akènes de *Rosa canina* et *Rosa sempervirens*

**Figure 11:** Classes des composés phénoliques des espèces du genre *Rosa*.

**Figure 12 :** Feuilles de *C. spinosa* subsp. *rupestris* (A) et de *C. spinosa* subsp. *spinosa* (B).  
Câpres de *C. spinosa* subsp. *spinosa* (C) et de *C. spinosa* subsp. *rupestris* (D).

**Figure 13 :** Préparations des extraits organiques et aqueux

**Figure 14 :** Chromatogrammes d'acides gras identifiés dans les boutons floraux de *C. spinosa* ssp. *spinosa* (A et B) et *C. spinosa* ssp. *rupestris* (C et D).



## Liste des Tableaux

- Tableau 1** : Rendements en extraits d'*Origanum sp.* issus par macération à l'hexane
- Tableau 2** : Teneur en chémotypes chez *Origanum sp.*
- Tableau 3** : Rendement en huiles essentielles des feuilles et fleurs d'*Origanum sp.*
- Tableau 4** : Composition en huiles essentielles (%) des feuilles et des fleurs de trois espèces d'*Origanum* (*O. majorana*, *O. vulgare* et *O. onites*).
- Tableau 5** : Classes et Composés majeurs des huiles essentielles des fleurs de *Rosa sp.*
- Tableau 6** : Composés et classes majeurs des huiles essentielles des feuilles des rosiers étudiés.
- Tableau 7** : Composés et classes majeurs des huiles essentielles des tiges des rosiers étudiés.
- Tableau 8** : Rendements en extraits organiques des plantes du genre *Rosa*.
- Tableau 9** : Teneur en composés phénoliques des extraits de *R. canina*
- Tableau 10** : Teneur en composés phénoliques des extraits de *R. moschata*
- Tableau 11** : Teneur en composés phénoliques des extraits de *R. sempervirens*
- Tableau 12** : Composition (%) en acides gras des câpres de *C. spinosa* subsp. *spinosa* et *C. spinosa* subsp. *rupestris* de différentes localités.
- Tableau 13** : Teneurs des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles et des câpres de *Capparis spinosa* subsp. *spinosa* et *C. spinosa* subsp. *rupestris* en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tannins.
- Tableau 14** : Teneurs en Chlorophylles,  $\beta$ -carotène et caroténoïdes totaux chez différentes espèces de *Capparis* collectées de différentes régions de la Tunisie
- Tableau 15** : Teneurs en sucre chez différentes espèces de *Capparis* collectées de différentes régions de la Tunisie



## Introduction Générale

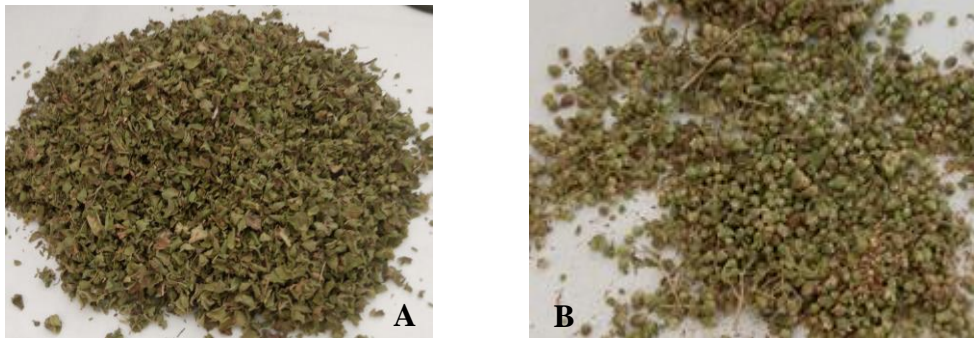
Depuis l'antiquité, divers plantes à usages alimentaires particulièrement les plantes médicinales, riches en molécules bioactives, ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies. Ces métabolites bioactifs (métabolites primaires et secondaires) d'origine naturelle ont été mis par la suite au profit des industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques et ont pu substituer les produits chimiques synthétiques. Les plantes médicinales constituent une véritable usine de synthèse de ces métabolites.

Dans ce contexte et notamment dans le cadre de notre travail, la caractérisation phytochimique des molécules bioactives chez les espèces identifiées dans la phase d'analyse permet la détermination des classes et des composés présents dans plusieurs organes de la plante (huiles essentielles, polyphénols, caroténoïdes, sucre, anthocyanes...). Cette étude servira par la suite à l'investigation des activités biologiques et à valoriser les intérêts nutraceutiques des plantes pour finir par développer des produits transformés à partir de ces espèces utilisables dans les secteurs industriels. Différentes espèces et parties de la plante seront étudiées et le facteur appartenance régionale est aussi évalué.

## D. Détermination quali-quantitative des composés bioactifs du genre *Origanum*

### V. Matériel végétal

La caractérisation biochimique concerne trois espèces spontanées du genre *Origanum* : *O. onites*, *O. vulgare* et *O. majaurana* qui ont été récoltées pendant la période de floraison durant la campagne 2020 (mois de Mai) de différentes localités de la Tunisie. Les feuilles (Fig. 1) et les boutons floraux (Fig. 1) des trois espèces ont été séchés à l'ombre à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant une semaine. Ensuite, ils ont été utilisés pour l'extraction des huiles essentielles et la préparation de différents extraits.



**Figure 1 :** Feuilles d'*Origanum* (A) et Fleurs d'*Origanum* (B).



**Figure 2 :** Broyage des feuilles et des fleurs d'*Origanum*.



## II. Méthodologie expérimentales de l'étude

### 2. Extraction des huiles essentielles

Trois méthodes ont été appliquées pour caractériser la fraction volatile des plantes :

- Macération à l'hexane
- Extraction par cleverger

#### 1.1. Extraction par macération à l'hexane

Ce protocole est appliqué pour dépister la présence de chemotypes à partir de faible quantité en matériel végétal. Les huiles essentielles sont isolées par extraction solide / liquide en trempant une pesée du matériel végétal dans 50ml d'hexane et suite à une incubation pendant une nuit à 4°C et sous agitation continue (Fig. 3). L'extrait est par la suite concentré à 0,5ml après filtration, puis analysé par GC/MS.



**Figure 3 :** Extraction de la fraction volatile par macération à l'hexane



## 1.2. Extraction par Clevenger

Les feuilles et les fleurs des plantes des trois espèces d'*Origanum* séchées sont grossièrement hachées. Ces échantillons sont pesés à raison de 100g par reprise et soumis par la suite à une hydrodistillation par entraînement à la vapeur dans un appareil de type clevenger (Fig. 4). L'hydrodistillation est arrêtée dès que la teneur en huile essentielle sera stable et n'évolue plus. L'extrait obtenu est transféré dans un flacon en verre et conservé à 4°C avant d'être analysé par chromatographie phase gazeuse. Les feuilles et les fleurs d'*Origanum sp.* soumises à l'extraction par hydrodistillation sont issues de trois espèces spontanément collectées à partir de 12 sites pour les feuilles et 9 sites pour les fleurs : *O. vulgare* feuilles (5 sites) et fleurs (2 sites), *O. onites* (6 sites) et *O. majorana* (1 site).



**Figure 4 :** Extraction des huiles essentielles par clevenger

## III. Résultats

### 1. Etude des huiles essentielles du genre *Origanum*

#### 1.1. Extraits volatils issus par macération à l'hexane

##### 1.1.1. Rendements

Les feuilles et les fleurs d'*Origanum sp.* sont issues de trois espèces spontanément collectées à partir de 12 sites. Les rendements sont variables entre espèces, organes et site de collecte (Tableau 1).

**Tableau 1:** Rendements en extraits d'*Origanum sp.* issus par macération à l'hexane

Espèce	Organe	Acétone (%)	MeOH/HCl (%)	Extrait aqueux (%)	Total métabolites (%)
<i>O. onites</i>	Feuilles	3,08-5,24	30,37-37,04	4,52-5,81	41,15-47,41
	Fleurs	3,05-4,79	23,64-37,74	3,08-5,47	31,37-46,44
<i>O. majorana</i>	Feuilles	11,07	27,30	6,14	44,51
	Fleurs	4,95	24,08	5,72	34,76
<i>O. vulgare</i>	Feuilles	3,16-5,18	35,20-38,16	4,12-6,53	43,94-48,74
	Fleurs	4,08-4,46	30,67-32,39	4,27-5,62	39,30-42,10

### 1.1.2. Identification des chémotypes

L'étude des huiles essentielles chez les plantes d'*Origanum* doit mettre en considération leur richesse en carvacrol et en thymol. Ainsi, il a été prouvé dans la littérature que les profils chimiques des substances bioactives des plantes peuvent être influencés par plusieurs facteurs tels que ceux biotiques et abiotiques. Des variabilités peuvent être détectées entre génotypes du même genre et même au sein des plantes de la même espèce collectées dans différentes localités géographiques. Ainsi, et pour mettre en relief la teneur en carvacrol et en thymol, une étude comparative a été mise en place à travers l'extraction et l'analyse séparée non seulement des génotypes d'*Origanum* (*O. glandulosum*, *O. onites*, *O. majorana*) mais aussi des organes et des provenances de la même espèce. Cela permet de déceler les différences, définir les chémotypes (carvacrol ou thymol) et orienter l'usage biologique de l'espèce ou l'accession selon son profil en huile essentielle.

L'analyse chromatographique des extraits volatils issus des trois espèces d'*Origanum* permet de noter une spécificité génotypique quel que soit l'organe étudié (feuilles et fleurs). Ainsi, trois différents chémotypes ont été identifiés pour le genre *Origanum* collecté en Tunisie ; le thymol, le carvacrol et le (Z)-sabinene hydrate (Tableau 2). Les feuilles et les fleurs d'*O. onites* sont distinguées par leur richesse en carvacrol. Les extraits d'*O. majorana* sont dominés par le monoterpène (Z)-sabinene hydrate. Pour la troisième espèce (*O. vulgare*), le thymol domine les profils de deux sites (1 et 2) et le carvacrol pour les sites 3 et 4.



**Tableau 2:** Teneur en chémotypes (Carvacrol et Thymol) chez *Origanum sp.*

Espèce	Site	Feuilles			Fleurs		
		Thymol	Carvacrol	(Z)-sabinene hydrate	Thymol	Carvacrol	(Z)-sabinene hydrate
<i>O. vulgare</i>	Site 1	50,55			16,08		
	Site 2	36,17					
	Site 3	19,46	26,86		34,54	38,81	
	Site 4	18,79	33,25		32,39	44,84	
<i>O. onites</i>	Site1		69,71			77,45	
	Site2		66,32			60,65	
	Site3		60,81			58,87	
	Site4		61,38			69,77	
	Site5		58,19			62,17	
	Site6		56,39			72,18	
<i>O. majorana</i>	Site 1			27,93			31,54

## 1.2. Huiles essentielles d'*Origanum sp.* issus par extraction par Clevenger

### 1.2.1. Rendements

Les rendements en huiles essentielles (HE) sont déterminés en volume et en masse par 100g de matière sèche. Les teneurs les plus élevées sont secrétées par les fleurs et elles varient entre 0.90 et 2.99g/100g MS pour les feuilles et entre 2.6 et 4.82g/100g MS pour les fleurs (Tableau 3). L'analyse des données montre que *O. majorana* est l'espèce la moins riche en huile essentielle.

**Tableau 3:** Rendement en huiles essentielles des feuilles et fleurs d'*Origanum sp.*

Espèce	Organe	Rendement en ml HE/100g MS	Rendement en g HE par 100g MS
<i>O. vulgare</i>	Feuilles	1,87 - 3,31	1,55 - 2,99
	Fleurs	5,16 - 5,38	4,60 - 4,82
<i>O. onites</i>	Feuilles	2,26	2,07
	Fleurs	3,90	3,57
<i>O. majorana</i>	Feuilles	1,13 - 2,20	0,90 - 1,90
	Fleurs	2,94 - 4,36	2,60 - 3,80

### 1.2.2. Composition en huiles essentielles

L'analyse chromatographique des huiles essentielles d'*Origanum sp.* Permet l'identification de trente-huit composés (Tableau 4).



**Tableau 4 :** Composition majoritaire en huiles essentielles (%) des feuilles et des fleurs de trois espèces d'*Origanum* (*O. majorana*, *O. vulgare* et *O. onites*).

Temps de rétention	Composés majoritaires	<i>O. majorana</i>		<i>O. vulgare</i>		<i>O. onites</i>
		Feuilles	Fleurs	Feuilles	Fleurs	Feuilles
6.320	(+)-SABINENE	7.40	6.37			
7.441	alpha.-Terpinene	5.55	7.52	0.94	2.88	1.57
7.670	O-CYMENE	0.76	0.52	<b>22.21</b>	<b>10.08</b>	7.48
8.648	GAMMA. TERPINENE	8.50	<b>10.80</b>	7.24	<b>15.07</b>	5.53
8.923	(Z)-SABINENE HYDRATE	6.98	2.35			
9.885	(+)-LINALOOL		<b>10.12</b>	0.82	0.43	
9.936	SABINENHYDRAT, TRANS	<b>34.08</b>				
12.414	1-Terpinen-4-ol	<b>15.52</b>	<b>18.93</b>		0.45	1.06
12.883	alpha.-Terpineol	4.70	2.86			
16.385	THYMOL			<b>14.91</b>	<b>26.01</b>	
16.728	Carvacrol			<b>38.36</b>	<b>41.68</b>	<b>79.03</b>
52.691	n-Eicosane		4.84			
56.227	n-Tetracosane		18.14			

Des variations quantitatives ont été enregistrées entre organes et espèces. Les feuilles d'*O. majorana* sont dominées par trans-sabinenhydrat (34,08%) suivi par le 1-Terpinen-4-ol qui présente le composé majeur des fleurs. Pour les plantes d'*O. vulgare*, thymol et carvacrol sont majoritaires dans les profils des feuilles et aussi des fleurs. Par contre pour la troisième espèce, *O. onites* est exclusivement caractérisé par le chémotype carvacrol qui présente 79% de la composition totale en huiles essentielles.

#### IV. Conclusion

En conclusion, cette étude démontre que pour les plantes d'*O. vulgare*, le thymol et le carvacrol sont majoritaires dans les profils des feuilles et aussi des fleurs. Par contre pour l'espèce, *O. onites* est exclusivement caractérisé par le chémotype carvacrol. Tandis que *O. majorana* sont dominés par le monoterpène (Z)-sabinene hydrate.

## E. Détermination quali-quantitative des composés bioactifs du genre *Rosa*

### I. Matériel végétal

Trois espèces de Rosier ont fait l'objet de cette étude : *Rosa sempervirens*, *Rosa canina* et *Rosa moshkata*. Des feuilles, fleurs, tiges et cynorrhodons ont été récoltés pendant la période de floraison de différentes localités (Fig. 5).



**Figure 5** : Feuilles de *Rosa* (A), Réceptacles (B), Pétales (C) et cynorrhodons de *Rosa sp* (D).

## II. Méthodologie expérimentales de l'étude

### 1. Extraction des huiles essentielles

La méthode d'hydrodistillation classique a été appliquée pour caractériser la fraction volatile des plantes de rosier.

#### 1.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Les drogues végétales soumises à cette méthodologie d'extraction sont les fleurs à l'état frais et les feuilles et les tiges séchées à l'air ambiant et grossièrement hachées des trois espèces de *Rosa* : *R. moschata*, *R. sempervirens* et *R. canina*. Ces échantillons sont pesés à raison de 100 g par reprise et soumis par la suite à une hydrodistillation par entraînement à la vapeur pour extraire leurs principes volatils. La procédure se déroule pendant trois heures à partir de l'ébullition.



Le choix de cette technique conventionnelle est fait vu le faible rendement en huiles essentielles des rosiers étudiés. Ainsi, et pour mieux caractériser la composition chimique des eaux aromatiques, une étape d'extraction liquide – liquide est mise en place en ajoutant au distillat un solvant organique de faible point d'ébullition ; le *n*-pentane. Après agitation pendant 30 min, la phase organique saturée en composés volatiles est récupérée, séchée sur sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre) puis concentrée sous reflux et à une température de 40°C. L'extrait obtenu est transféré dans un pilulier en verre et conservé à 4°C avant d'être analysé par chromatographie.

## **2. Extraction des molécules bioactives**

Les drogues végétales adoptées dans cette étude appartiennent à trois espèces de *Rosa*. Après le tri et le broyage, le matériel végétal est soumis à une méthodologie d'extraction permettant son épuisement et l'extraction du maximum de substances phytochimiques bioactives. Un protocole de macérations successives du matériel végétal dans des solvants à ordre de polarité croissant est ainsi adopté (hexane, acétone, méthanol / acide chlorhydrique, eau distillée). L'hexane est utilisé pour le dégraissage du matériel végétal, l'acétone sert pour l'extraction des métabolites solubles dans les solvants moyennement polaires et le méthanol et le H<sub>2</sub>O sont employés pour la purification de la fraction la plus polaire de la plante.

Les solutions seront par la suite filtrées et les filtrats se concentrent sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif.

## **3. Détermination qualitative et quantitative des composés bioactifs**

### **3.1. Dosages spectrophotométriques**

#### **3.1.1. Teneur en polyphénols totaux (TPC)**

La teneur en polyphénols totaux des extraits végétaux est estimée par le test du dosage colorimétrique de Folin - Ciocalteu. Brièvement, différentes concentrations des extraits sont préparées à travers la dilution des extraits dans les solvants convenables. 50 µl de ces solutions sont mélangés avec 450 µl d'eau désionisée, 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu et 500 µl de bicarbonate de sodium à 10% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Après incubation dans l'obscurité à la température ambiante pendant 1 h, l'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 786 nm contre l'air et l'essai est répété au moins trois fois. L'acide gallique est utilisé comme standard. La concentration des polyphénols totaux est estimée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le standard (0–300 µg/ml) et elle est exprimée en µg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG mg<sup>-1</sup> d'extrait).





### 3.1.2. Dosage des chlorophylles, $\beta$ -carotène et caroténoïdes totaux

Pour mesurer les teneurs en caroténoïdes totaux, en chlorophylles et en  $\beta$ -carotène, 1 g d'échantillon végétal est homogénéisé avec 5 ml d'acétone dans un mortier en porcelaine froid dans un bain de glace. Ensuite, 1 g de sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) est ajouté à l'homogénat, qui est décanté en utilisant un filtre en papier. La solution filtrée est complétée à 10 ml avec de l'acétone et centrifugée à 2600 x g pendant 10 min. La phase supérieure est collectée et l'absorbance de la solution à 662, 645 et 470 nm est mesurée. L'acétone est utilisée comme control. Les teneurs en caroténoïde et en  $\beta$ -carotène sont calculées en utilisant les formules suivantes :

$$\text{Cla} = 11,75A_{662} - 2,350A_{645}$$

$$\text{Clb} = 18,61A_{645} - 3,960A_{662}$$

$$\text{CTC} = 1000A_{470} - 2,270\text{Cla} - 81,4\text{Clb}/227$$

$$\beta\text{-carotene} = 0,854A_{479} - 0,312A_{645} + 0,039A_{663} - 0,005$$

Où Cla = Chlorophylle *a*, Clb = Chlorophylle *b*, CTC = Contenu total en caroténoïdes et A = absorbance.

### 3.1.3. Teneur en anthocyanes totaux

Pour la détermination de la teneur en anthocyanes totaux, les échantillons végétaux sont homogénéisés dans de l'eau et incubées pendant 30min. Après centrifugation, l'absorbance du surnageant est mesurée à 525 nm et la teneur en anthocyanes totaux est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Teneur en anthocyanes totaux (mg/g)} = (A_{525} \times 10/1000 \times \text{volume ajouté à la prise d'essai (ml)} \times \text{facteur de dilution/poids de l'échantillon (g)})$$

## 3.2. Analyses chromatographiques

### 3.2.1. Analyses qualitatives et quantitatives par HPLC/DAD

Les analyses des extraits de *Rosa* sont réalisées à l'aide d'un appareil de chromatographie liquide à ultra-haute performance (UHPLC : Ultimate 3000) équipé d'une pompe binaire à haute pression, un détecteur à réseau de photodiodes (DAD), un compartiment de colonne thermostaté et un injecteur d'échantillon automatisé. Les prises d'essai (20 $\mu$ l pour chaque extraits) sont injectées dans une colonne en phase inverse renfermant une phase stationnaire composée de particules solides très fins de 5 $\mu$ m de diamètre et équipé d'une colonne de garde. Les extraits végétaux sont analysés en utilisant une phase mobile constituée d'un système de solvant A (acide formique à 2,5% dans l'eau) et un système de solvant B (acide



formique à 2,5% dans de l'acétonitrile). Le débit d'éluant est de 1 ml/min. Le traitement des données recueillies est effectué à l'aide d'un système de gestion des informations chromatographiques ; Chromeleon V 6.80.

La quantification des polyphénols se réalise à une longueur d'onde  $\lambda=280$  nm pour la catéchine, l'épicatéchine et le gallate d'épicatéchine à partir des courbes d'étalonnage établies avec les étalons de référence correspondants et dont les coefficients de corrélation sont de  $r = 0,999$ . Pour les dérivés de quercétine et de kaempférol, la quantification s'établit à une longueur d'onde  $\lambda$  de 350 nm en utilisant la rutine et le kaempférol 3-O glucoside en tant que référence, respectivement (coefficient de corrélation pour les deux courbes  $r = 0,999$ ). Les étalons de référence à utiliser sont catéchine, épicatechine, gallate d'épicatéchine, rutine (quercétine rutinoside 3-O-), quercétine 3-Oglucoside, kaempférol 3-O-rutinoside, kaempférol 3-O glucoside, kaempférol 7-O-glucoside, quercitrine (quercétine 3-O-rhamnoside), acide caféïque, acide férulique, acide gallique et acide chlorogénique. Les résultats des analyses sont rapportés en milligrammes (mg) du composé par 100 mg d'extrait (mg/100mg extrait).

### **3.2.3. Analyses qualitatives et quantitatives des huiles essentielles par GC/FID et GC-MS**

L'analyse quantitative des huiles essentielles est assurée grâce à un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (GC/FID). La séparation des composés volatils est optimisée à l'aide d'une colonne de type SLB-5ms (Supelco) de 30 m de longueur, de 0,25 mm de diamètre et dont l'épaisseur du film est de 0,25  $\mu\text{m}$ . Le programme d'analyse est le suivant : la température initiale du four est de 40°C. Elle est augmentée jusqu'à 250°C avec un gradient de 3°C/min, maintenue pendant 5min puis remontée de nouveau à raison de 10°C/min jusqu'à atteindre 300°C où elle est entretenue pendant 1 min. Les températures du détecteur (DIF) et de l'injecteur sont fixées à 280 et 250°C respectivement. Le gaz vecteur utilisé est l'Hélium (30cm/s ; 97,4 kPa). Les données sont traitées par le logiciel GC solution. Les échantillons sont soumis aussi à une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) avec ionisation par impact d'électron (EI). La colonne, le programme de température du four, les paramètres de l'injection et le gaz vecteur sont les mêmes que ceux utilisés durant l'analyse par GC-FID. Les conditions analytiques du spectromètre de masse sont les suivants : les températures d'interface et de la source sont 250°C et 200°C respectivement ; l'énergie d'ionisation électronique (EI) utilisée est de 0,94 kV ; la gamme complète de masse est [40 – 400] m/z ; la vitesse et l'intervalle de balayage sont de 2000 uma/s et 0,20 s respectivement. Le traitement des données est effectué



par le logiciel GCMS solution ver. 2.51. L'identification des pics est assurée par l'utilisation des indices de rétentions linéaires (IR), qui sont mesurés expérimentalement suite à l'injection d'un mélange de *n*-alcane C<sub>7</sub>–C<sub>30</sub> et comparés avec ceux extraits de la littérature et de la base de données dédiée. L'identification des composés volatils est aussi effectuée en comparant les spectres de masse avec ceux donnés par des bases de données générales à savoir NIST08 et Wiley.

### 3.3. Dosages des sucres solubles

La teneur en sucres solubles est déterminée par simple lecture sur un réfractomètre en mettant quelques gouttes de la solution sur le prisme porte-goutte. Le réfractomètre est gradué en degrés Brix qui est la teneur en sucres pour 100g de solution.

## III. Résultats

### 1. Etude des huiles essentielles

#### 1.1. Huiles essentielles des fleurs

L'analyse chromatographique des HEs issues des fleurs des trois espèces de *Rosa* (*R. canina*, *R. moschata* et *R. sempervirens*) a permis l'identification de 87 composés volatils (Tableau 5).

L'analyse qualitative a montré la présence de 35 composés dans le profil de *R. canina*, 42 composés pour les fleurs de *R. moschata* et 12 composés pour les HEs des échantillons de *R. sempervirens*. Pour *R. canina*, les HEs des fleurs sont riches en composés terpéniques (81,18%) et plus précisément en sesquiterpènes oxygénés (58,70 %). Cette classe chimique est majoritairement représentée par le caryophyllène oxide (32,85%) suivi par le  $\beta$ -himachalène oxide (14,53%).

Les HEs des fleurs de *R. moschata* présentent une composition plus riche en phénylpropanoïde (63,67%) remarquablement dominées par l'eugénol qui représente 63,60%. Le second composé majeur est l'alcool phényléthylique et il est secrété par les fleurs de *R. moschata* à raison de 9,36%.

Pour *R. sempervirens*, l'analyse chromatographique des HEs des fleurs a révélé leur richesse en sesquiterpènes oxygénés qui représentent 50,18% du total des composés identifiés. Le composé majeur est le même que celui de la fraction volatile des fleurs de *R. canina* ; le caryophyllène oxide et il représente 34,70%. Le second composé majeur est le *n*-heptadécane (14,37%).



**Tableau 5 :** Classes et Composés majeurs des huiles essentielles des fleurs de *Rosa sp.*

Composés	<i>Rosa canina</i>	<i>Rosa moschata</i>	<i>Rosa sempervirens</i>
<b>Composés majeurs</b>			
Citronellol	-	6,56	-
$\beta$ -caryophyllène	1,02	3,76	5,08
$\gamma$ -himachalène	3,01	-	-
Caryophyllène oxide	<b>32,85</b>	1,60	<b>34,70</b>
$\beta$ -himachalène oxide	<b>14,53</b>	-	-
1-épi-cubénol	0,80	-	8,95
Caryophylla-4(14),8(15)-	2,83	-	6,53
Eugénol	2,99	<b>63,60</b>	-
Alcool phényléthylique	-	9,36	-
<i>n</i> -heptadécane	2,23	7,35	14,37
Tétradécanal	-	0,14	7,19
Classes	<i>R. canina</i>	<i>R. moschata</i>	<i>R. sempervirens</i>
<i>Monoterpènes</i>	2,28	0,00	4,98
<i>Monoterpènes Oxygénés</i>	5,90	9,34	0,00
<i>Sesquiterpènes</i>	13,70	4,76	18,98
<i>Sesquiterpènes Oxygénés</i>	58,70	1,75	50,18
<i>Phénylpropanoïdes</i>	2,99	63,67	0,00
<i>Alcool</i>	0,00	9,41	0,00
<i>Composés aliphatiques</i>	2,23	8,63	18,67
<i>Aldéhydes</i>	0,93	0,90	7,19

## 1.2. Huiles essentielles des feuilles

La majorité des profils des échantillons des feuilles est dominée par le linalol. Il représente 20,65% chez les HEs des feuilles de *R. canina*, 20,36% chez *R. moschata* et 31,51% chez les feuilles de *R. sempervirens* (Tableau 6). Les trois profils des HEs sont majoritairement représentés par la classe des Monoterpènes Oxygénés.

**Tableau 6 :** Composés et classes majeurs des huiles essentielles des feuilles des rosiers étudiés.

Composés majeurs	<i>R. canina</i>	<i>R. moschata</i>	<i>R. sempervirens</i>
(E)-2-hexenal (=Trans-2-Hexenal; =Leaf aldehyde)	1,33	0,57	5,27
Linalool	<b>20,65</b>	<b>20,36</b>	<b>31,51</b>
<i>n</i> -Nonanal	5,37	2,47	4,71
$\alpha$ -terpineol	5,23	5,43	8,55
Geraniol	4,57	4,10	4,13
Trans-Muurolo-4(14),5-diene	6,02	-	-
(E)-Nerolidol (=Trans-Nerolidol)	-	6,58	1,64
Béta-Himachalene oxide	6,27	-	-
Mayurone	<b>12,04</b>	-	-
Phytone	1,89	6,86	1,48
6,10,14-trimethyl-2-pentadecane	-	6,82	1,09
Acide <i>n</i> -hétéradécanoïque	<b>7,98</b>	<b>12,32</b>	<b>2,83</b>
Classes	<i>R. canina</i>	<i>R. moschata</i>	<i>R. sempervirens</i>
Monoterpènes Oxygénés	<b>35,4</b>	<b>39</b>	<b>54,48</b>
Sesquiterpènes hydrocarbonés	11,17	0,74	2,78
Sesquiterpènes oxygénés	<b>29,06</b>	<b>13,24</b>	14,03
Diterpènes	1,89	9,35	2,67
Aldéhydes	9,58	9,7	<b>14,72</b>
Composés aliphatiques	0,08	8,5	2,73
Acides	8,09	13,11	2,91
Phénylpropanoïdes	2,58	0,16	0,19



### 1.3. Huiles essentielles des tiges

L'analyse chromatographique des huiles essentielles des tiges permet l'identification de **59** composés chez *R. canina*, **74** composés chez *R. moschata* et **114** composés chez *R. sempervirens*. Pour *R. canina*, les HEs des tiges sont riches en sesquiterpènes oxygénés (41,92 %), suivi par la classe des monoterpènes oxygénés (15,68%) (Tableau 7). Pour *R. moschata* et *R. sempervirens*, les deux classes majeures renferment les acides et les monoterpènes oxygénés.

On note la richesse des HEs de *R. canina* en caryophyllène oxide (11,43%) et en (E)-nerolidol (11,33%). Par contre, l'acide *n*-hexadécanoïque est majoritaire pour les espèces de la Section *Synstylae* et il représente 49,51% chez *R. moschata* et 14,69% chez *R. sempervirens*.

**Tableau 7 :** Composés et classes majeurs des huiles essentielles des tiges des rosiers étudiés.

Composés majeurs	<i>R. canina</i>	<i>R. moschata</i>	<i>R. sempervirens</i>
Linalool	<b>8,36</b>	<b>4,53</b>	<b>14,38</b>
$\alpha$ -terpineol	2,94	1,71	<b>3,58</b>
(E)-Nerolidol	<b>11,33</b>	<b>5,95</b>	0,52
Caryophyllène oxide	<b>11,43</b>	0,48	-
Mayurone	<b>5,45</b>	-	-
Acide <i>n</i> -tétradécanoïque	2,09	<b>9,14</b>	1,23
Phytone	<b>8,88</b>	<b>5,97</b>	2,72
6,10,14-triméthyl-2-pentadecane	-	-	<b>4,72</b>
Acide <i>n</i> -hétéradécanoïque	-	<b>49,51</b>	<b>14,69</b>
N-Heneicosane (C21)	-	1,04	<b>6,75</b>
Classes	<i>R. canina</i>	<i>R. moschata</i>	<i>R. sempervirens</i>
Monoterpènes Oxygénés	<b>15,68</b>	<b>11,27</b>	<b>33,46</b>
Sesquiterpènes hydrocarbonés	8,91	1,54	1,35
Sesquiterpènes oxygénés	<b>41,92</b>	8,68	8,61
Diterpènes	8,88	6,29	4,38
Aldéhydes	13,05	3,76	4,63
Composés aliphatiques	2,12	5,74	20,53
Acides	2,68	<b>60,28</b>	<b>16,37</b>

## 2. Etudes des composés bioactifs des rosier

### 2.1. Rendement en composés bioactifs des rosiers

La détermination des rendements en métabolites chez le genre *Rosa* montre une variabilité interspécifique et entre les organes (Tableau 8). Les métabolites polaires sont plus dominants chez les péricarpes et les solvants MeOH/HCl permettent l'extraction de la majorité des biomolécules chez les espèces de ce genre. Les rendements varient entre 3,67 et 4,09g par 100g de matière sèche pour les extraits moyennement polaires (Acétone) et entre 2,17 et 43,75% pour les métabolites obtenus par extraction fortement polaire (Tableau 8). La présente étude

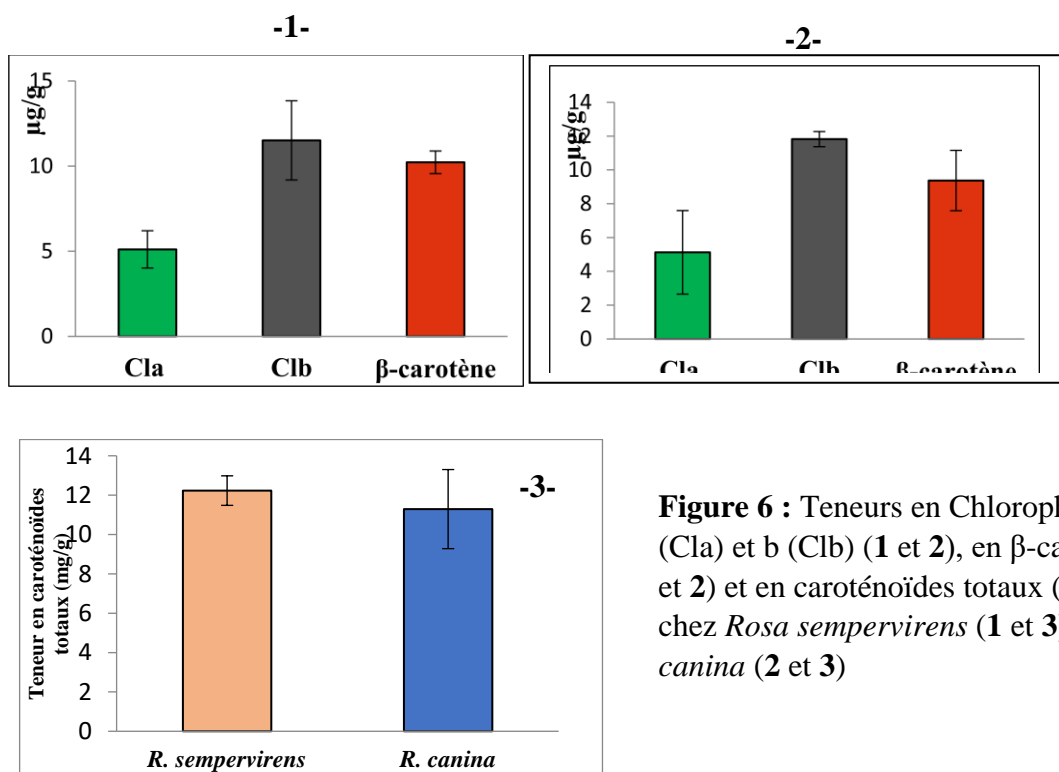
permet l'extraction d'une grande partie des molécules dépassant les 50% pour les péricarpes de *R. canina* et *R. sempervirens*.

**Tableau 8 :** Rendements en extraits organiques des plantes du genre *Rosa*.

Espèces	Organe	Acétone (%)	MeOH/HCl (%)	Extrait aqueux (%)	Total métabolites (%)
<i>R. moschata</i>	Réceptacles	4,09	21,73	6,79	32,61
	Pétales	8,94	19,04	7,32	35,31
<i>R. canina</i>	Péricarpe	5,67	43,75	7,63	57,06
	Akène	4,11	13,59	2,96	20,66
<i>R. sempervirens</i>	Péricarpe	8,97	33,18	10,05	52,20
	Akène	3,67	6,07	2,17	11,90

## 2.2. Teneur en Chlorophylles, $\beta$ -carotènes et caroténoïdes totaux

Les cynorrhodons de *Rosa sempervirens* et *Rosa canina* sont testés pour leurs teneurs en Chlorophylle a (Cla), chlorophylle b (Clb),  $\beta$ -carotène et teneur en caroténoïdes totaux (TCT) (Fig 6). Les teneurs en Cla et Clb sont de 5,11 et 11,51  $\mu\text{g/g}$  chez *R. sempervirens* et de 5,12 et 11,82  $\mu\text{g/g}$  chez *R. canina*. Pour l'évaluation de  $\beta$ -carotène et TCT, les valeurs enregistrées chez *R. sempervirens* sont de 10,23  $\mu\text{g/g}$  MF et 12,28 mg/g MF, respectivement. Les cynorrhodons de *R. canina* renferment 9,37  $\mu\text{g/g}$  MF de  $\beta$ -carotène et une teneur de 11,29 mg/g MF en caroténoïdes totaux.

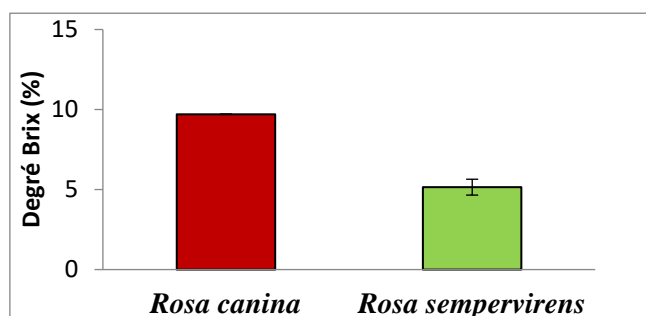


**Figure 6 :** Teneurs en Chlorophylles a (Cla) et b (Clb) (1 et 2), en  $\beta$ -carotène (1 et 2) et en caroténoïdes totaux (TCT) (3) chez *Rosa sempervirens* (1 et 3) et *Rosa canina* (2 et 3)



### 2.3. Teneur en sucre

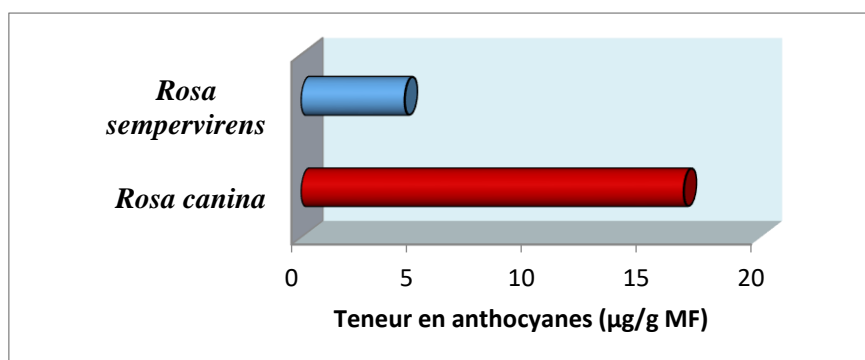
La teneur en sucre est mesurée par refractomètre et elle est exprimée en %. Pour le genre *Rosa*, les péricarpes de *R. canina* et *R. sempervirens* ont été évalués pour ce paramètre (Fig. 7). Les teneurs enregistrées sont faibles mais *R. canina* est plus riche en sucre que *R. sempervirens* (9,7 contre 5,15% respectivement).



**Figure 7:** Teneur en sucre des péricarpes de *Rosa canina* et *Rosa sempervirens*

### 2.4. Teneur en anthocyanes

Le dosage des anthocyanes selon la méthode spectrophotométriques montre que les espèces de *Rosa* sont faiblement riches en anthocyanes. La teneur est plus élevée chez les cynorrhodons de *R. canina* (16,67 $\mu$ g/g) comparée à celle trouvée chez *R. sempervirens* (4,52 $\mu$ g/g MF) (Fig.8).



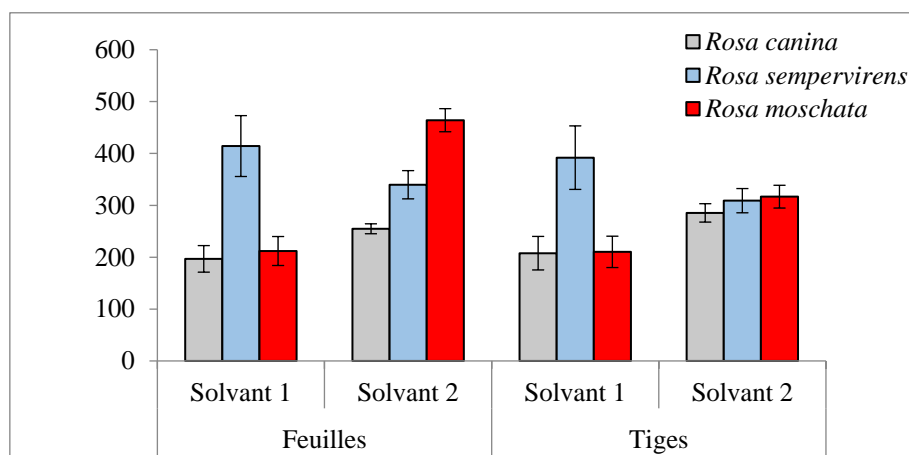
**Figure 8:** Teneur en anthocyanes des cynorrhodons de *Rosa canina* et *Rosa sempervirens*

### 2.5. Teneurs en polyphénols totaux

#### 2.5.1. Organes végétatifs de *Rosa sp.*

Les teneurs en polyphénols totaux TPT sont déterminées chez les feuilles et les tiges de *R. canina*, *R. sempervirens* et *R. moschata* (Fig.9). Les résultats sont exprimés en  $\mu$ g d'équivalent acide gallique par mg d'extrait sec ( $\mu$ g AGE  $\text{mg}^{-1}$  ES). Deux solvants ont été utilisés ; l'un moyennement polaire (solvant 1) et l'autre polaire (solvant 2). Les TPT sont

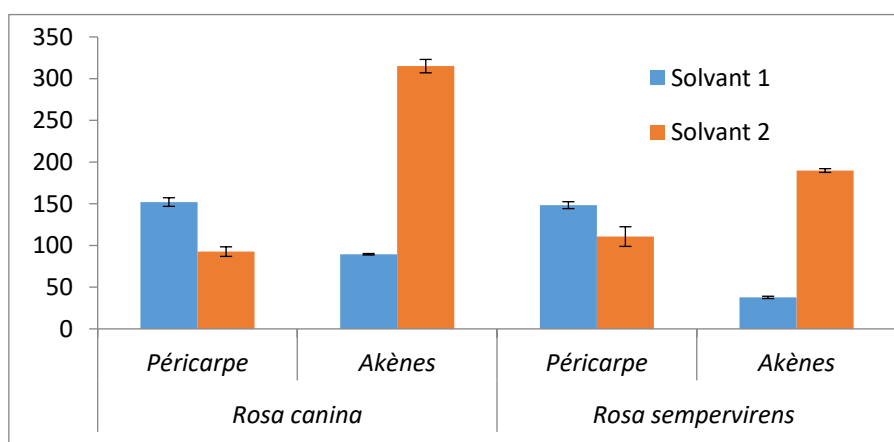
élevées pour les trois espèces, quel que soit l'organe et avec les deux solvants d'extraction. Ces teneurs varient entre 196,79 et 285,45  $\mu\text{g AGE mg}^{-1}$  ES pour *R. canina*, entre 308,98 et 414,28 pour *R. sempervirens* et entre 210,31 et 464,13  $\mu\text{g AGE mg}^{-1}$  ES pour *R. moschata*.



**Figure 9:** Teneurs en polyphénols totaux des extraits organiques des feuilles et de tiges de *Rosa canina*, *Rosa sempervirens* et *Rosa moschata*

### 2.5.2. Cynorrhodons de *Rosa* sp.

Les akènes et les péricarpes de *R. canina* et aussi de *R. sempervirens* sont riches en polyphénols totaux et les valeurs varient entre 37,76 et 315,0  $\mu\text{g AGE mg}^{-1}$  ES pour les akènes et entre 92,63 et 152,05  $\mu\text{g AGE mg}^{-1}$  ES pour les péricarpes (Fig.10). Les teneurs les plus élevées sont enregistrées avec le solvant polaire pour les akènes (315 et 189,83  $\mu\text{g AGE mg}^{-1}$  ES pour *R. canina* et *R. sempervirens*, respectivement) et le solvant moyennement polaire pour les péricarpes (152,05 et 148,30  $\mu\text{g AGE mg}^{-1}$  ES pour *R. canina* et *R. sempervirens*, respectivement).



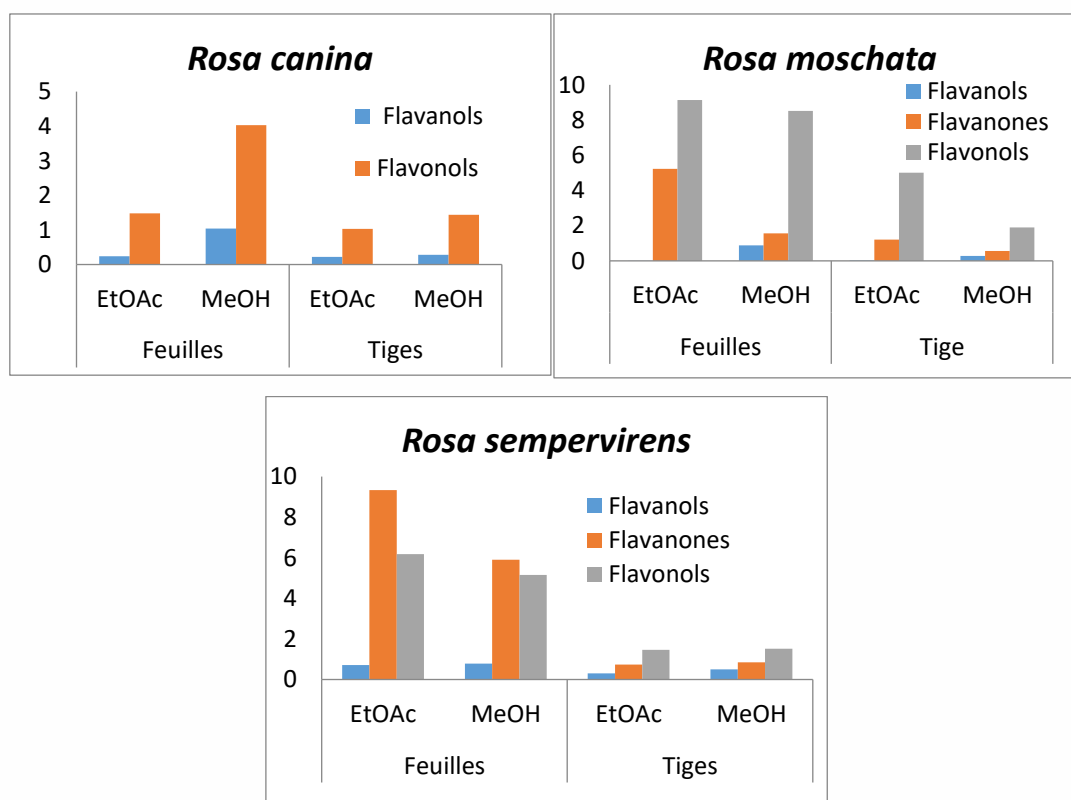
**Figure 10:** Teneurs en polyphénols totaux des extraits organiques des péricarpes et des akènes de *Rosa canina* et *Rosa sempervirens*

## 2.6. Teneur et composition phénolique

Les analyses chromatographiques moyennant la HPLC-DAD et la HPLC-DAD-ESI-MS ont été effectuées afin de caractériser le profil et le contenu phénolique des extraits des feuilles et des tiges de trois espèces du genre *Rosa* ; *R. canina*, *R. moschata* et *R. sempervirens* (Fig.11). Le principal objectif est d'identifier les composants marqueurs chemotypiques présents dans les extraits.

Dans cette étude, environ 20 composants ont été individualisés dans les extraits de *Rosa sp.*: onze flavanols (dérivés de quercétine et de kaempférol), trois flavan-3-ols (catéchine, épicatechine et épicatechine gallate), et un flavanone (nouveau métabolite); l'apigénine, l'apigénine de méthyle, l'acide ellagique et un ensemble de dérivés d'acide cinnamique ont également été détectés dans les extraits en très petites quantités.

Les 15 composants majeurs ont été identifiés au moyen de leurs spectres UV-vis, spectres de masse et temps de rétention relatifs dans chaque extrait de *Rosa sp.*



**Figure 11:** Classes des composés phénoliques des espèces du genre *Rosa*.

Dans notre étude, *R. canina* a montré une «préférence» envers les dérivés de kaempférol tandis que *R. moschata* et *R. sempervirens*, dont les profils sont étroitement liés, contenait un plus grand nombre de dérivés de quercétine. Quercitrine (quercétine 3-O-rhamnoside) est le composé majeur de RM et il est le second composé principal de RS (Tableau 9, 10 et 11).



Les flavan-3-ols (catéchine, épicatechine et le gallate d'épicatechine) se sont révélés être ubiquitaires dans tous les extraits analysés. Quercetin-3-O-glucoside est le principal composé majeur des extraits de *R. canina* (Tableau 9, 10 et 11).

L'aromadédrine (di-hydrokaempferol) hexoside-deoxyhexoside est détecté dans les profils des extraits de *R. sempervirens* et *R. moschata*, mais non plus dans ceux de *R. canina* (Tableau 9, 10 et 11).

**Tableau 9:** Teneur en composés phénoliques des extraits de *R. canina*

Composés phénoliques	Feuilles		Tiges	
	EtOAc	MeOH	EtOAc	MeOH
<b>Flavanols</b>				
Catéchine	0,07	0,33	0,22	0,17
Epicatechine gallate	0,17	0,46	tr	0,03
Epicatechine	tr	0,25	tr	0,08
<b>Teneur en Flavanols</b>	0,24	1,04	0,22	0,28
<b>Flavonols</b>				
Quercétine di-hexoside	tr	0,17	tr	0,02
Rutine	0,02	0,15	0,02	0,15
Quercétin 3-O-glucoside	0,67	2,27	0,37	0,69
Kaempférol hexoside - deoxyhexoside (3-O-rutinoside isomer)	0,6	0,83	0,55	0,43
Kaempférol 3-O-rutinoside	0,03	0,11	0,01	0,01
Kaempférol 7-O-glucoside	0,02	0,12	0,01	0,02
Kaempférol 3-O-glucoside	0,14	0,28	0,04	0,02
Quercétine 3-O-rhamnoside (quercitrine)	tr	0,1	0,03	0,1
<b>Teneur en flavonols</b>	1,48	4,03	1,03	1,44

**Tableau 10:** Teneur en composés phénoliques des extraits de *R. moschata*

Composés phénoliques	Feuilles		Tige	
	EtOAc	MeOH	EtOAc	MeOH
<b>Flavanols</b>				
Catéchine	Tr	0,59	0,03	0,22
Epicatechine gallate	tr	0,21	tr	0,04
Epicatechine	0,01	0,08	tr	0,02
<b>Teneur en Flavanols</b>	0,01	0,88	0,03	0,28
<b>Flavanones</b>				
Aromadédrine hexoside-deoxyhexoside	5,23	1,56	1,21	0,56
<b>Teneur en flavanones</b>	5,23	1,56	1,21	0,56
<b>Flavonols</b>				
Quercétine di-hexoside	0,01	0,33	tr	0,05
Rutine	0,16	0,24	0,05	0,13
Quercétin 3-O-glucoside	0,49	1,7	0,23	0,55
Kaempférol hexoside - deoxyhexoside (3-O-rutinoside isomer)	0,28	0,62	0,94	0,62
Kaempférol 3-O-rutinoside	0,11	0,19	tr	0,03
Quercétine pentoside 1	0,08	0,08	0,1	0,06
Quercétine pentoside 2	0,35	0,13	0,17	0,09
Quercétine 3-O-rhamnoside (quercitrine)	6,84	5,05	3,35	1,32
Kaempférol rhamnoside	0,82	0,18	0,17	0,05
<b>Teneur en flavonols</b>	9,14	8,52	5,01	1,9



**Tableau 11:** Teneur en composés phénoliques des extraits de *R. sempervirens*

Composés phénoliques	Feuilles		Tiges	
	EtOAc	MeOH	EtOAc	MeOH
<b>Flavanols</b>				
Catéchine	0,71	0,53	0,3	0,48
Epicatechine gallate	tr	0,24	tr	0,02
Epicatechine	tr	0,01	tr	tr
<b>Teneur en Flavanols</b>	<b>0,71</b>	<b>0,78</b>	<b>0,3</b>	<b>0,5</b>
<b>Flavanones</b>				
Aromadendrine hexoside-deoxyhexoside	9,33	5,9	0,74	0,85
<b>Teneur en flavanones</b>	<b>9,33</b>	<b>5,9</b>	<b>0,74</b>	<b>0,85</b>
<b>Flavonols</b>				
Quercétine di-hexoside	tr	0,21	tr	0,04
Rutine	0,04	0,38	0,04	0,19
Quercétin 3- <i>O</i> -glucoside	0,05	0,59	0,13	0,19
Kaempférol hexoside - deoxyhexoside (3- <i>O</i> -rutinoside isomer)	0,05	0,41	0,25	0,44
Kaempférol 3- <i>O</i> -rutinoside	tr	0,01	tr	tr
Quercétine pentoside 1	0,05	0,06	0,05	0,05
Quercétine pentoside 2	0,41	0,27	0,28	0,16
Quercétine 3- <i>O</i> -rhamnoside (quercitrine)	5,12	3,04	0,67	0,43
Kaempférol rhamnoside	0,46	0,18	0,04	0,02
<b>Teneur en flavonols</b>	<b>6,18</b>	<b>5,15</b>	<b>1,46</b>	<b>1,52</b>

## IV. Conclusion

Les différentes espèces de *Rosa* sont largement répandues dans le monde. Elles sont utilisées dans de nombreux domaines (agroalimentaire, cosmétique, aromathérapie...), et ce pour leurs vertus et leur grande richesse en composés bioactifs qui leur donnent des propriétés biologiques importantes.

Dans le présent travail, nous avons étudié la caractérisation phytochimique de trois espèces de rosiers qui font partie des ressources à vertus aromatiques et médicinales en Tunisie : *Rosa sempervirens*, *Rosa canina* et *Rosa moshkata*.

La caractérisation phytochimique a été focalisée sur la détermination quali-quantitative des composés bioactifs. Ces derniers sont nécessaires pour la croissance et le développement naturel de la plante. D'autre part, ces métabolites présentent un mécanisme de défense contre les bactéries pathogènes (bactéries, champignons) et aussi contre les conditions climatiques



défavorables. Elles sont utilisées également en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection des boissons, soit en forme galénique ou naturelle, soit encore sous forme de principe actif, comme matière pour l'obtention des médicaments.

L'analyse chromatographique des HEs issues des fleurs des trois espèces de *Rosa* (*R. canina*, *R. moschata* et *R. sempervirens*) a permis l'identification de 87 composés volatils.

L'analyse qualitative a montré la présence de 35 composés dans le profil de *R. canina*, 42 composés pour les fleurs de *R. moschata* et 12 composés pour les HEs des échantillons de *R. sempervirens*. Pour *R. canina*, les HEs des fleurs sont riches en composés terpéniques (81,18%). Les HEs des fleurs de *R. moschata* présentent une composition plus riche en phénylpropanoïde (63,67%). Pour *R. sempervirens*, l'analyse chromatographique des HEs des fleurs a révélé leur richesse en sesquiterpènes oxygénés. Le composé majeur est le même que celui de la fraction volatile des fleurs de *R. canina*. La majorité des profils des échantillons des feuilles est dominée par le linalol pour les trois espèces. Les trois profils des HEs sont majoritairement représentés par la classe des Monoterpènes Oxygénés.

L'analyse chromatographique des huiles essentielles des tiges permet l'identification de 59 composés chez *R. canina*, 74 composés chez *R. moschata* et 114 composés chez *R. sempervirens*.

Les rendements en métabolites chez le genre *Rosa* montre une variabilité interspécifique et entre les organes. Les métabolites polaires sont plus dominants chez les péricarpes et les solvants MeOH/HCl. Les cynorrhodons de *Rosa sempervirens* et *Rosa canina* testés pour leurs teneurs en Chlorophylle a (Cla), chlorophylle b (Clb),  $\beta$ -carotène et teneur en caroténoïdes totaux, montre que Les teneurs en Cla et Clb les plus élevées sont obtenus chez *R. canina*. Pour l'évaluation de  $\beta$ -carotène et TCT, les valeurs les plus élevées sont enregistrées chez *R. sempervirens*. Les cynorrhodons de *R. canina* sont les plus riches en  $\beta$ -carotène et en caroténoïdes totaux.

Pour les teneurs en sucre mesurées, *R. canina* est avérée plus riche en sucre que *R. sempervirens*.

Le dosage des anthocyanes montre que les espèces de *Rosa* sont faiblement riches en anthocyanes. La teneur est plus élevée chez les cynorrhodons de *R. canina* comparée à celle trouvée chez *R. sempervirens*.

Les teneurs en polyphénol totaux sont élevées pour les trois espèces, quel que soit l'organe et avec les deux solvants d'extraction utilisés.



## A. Détermination quali-quantitative des composés bioactifs du genre *Capparis*

### I. Matériel végétal

Deux sous-espèces du câprier ont fait l'objet de cette étude : *Capparis spinosa* subsp. *spinosa* L. (câprier épineux) et *Capparis spinosa* subsp. *rupestris* L. (câprier inerme) qui ont été récoltées pendant la période de floraison durant la campagne 2020 (mois de Mai). Les feuilles et les boutons floraux (Figure 12) de deux sous-espèces ont été séchés à l'ombre à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant deux semaines. Ensuite, ils ont été broyés pour obtenir une poudre fine utilisée pour l'extraction des acides gras et pour la préparation de différents extraits.

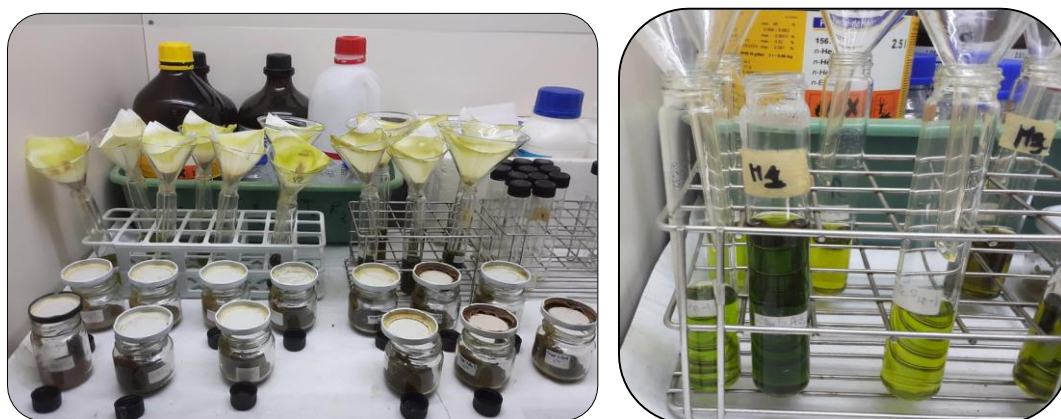


**Figure 12 :** Feuilles de *C. spinosa* subsp. *rupestris* (A) et de *C. spinosa* subsp. *spinosa* (B).  
Câpres de *C. spinosa* subsp. *spinosa* (C) et de *C. spinosa* subsp. *rupestris* (D).

## II. Méthodes expérimentales

### 1. Préparations des extraits organiques et aqueux

10 g de chaque échantillon finement broyé ont été mélangés avec 50 ml d'éthanol ou d'eau distillée. Le mélange est mis en agitation continue (shaker) pendant 24 heures, à température ambiante et à l'obscurité. Après macération, les extraits ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre sans cendre (Fig. 13). Les extraits éthanoliques ainsi obtenus ont été séchés à l'aide d'un évaporateur rotatif, alors que les extraits aqueux ont été lyophilisés. Les extraits ont été conservés à 4 °C et à l'abri de la lumière pour les analyses ultérieures des teneurs en composés phénoliques et des activités antioxydante, .....



**Figure 13 :** Préparations des extraits organiques et aqueux

### 2. Caractérisation des acides gras

#### 2.1. Préparation et extraction des lipides totaux

La méthode utilisée pour l'extraction des lipides totaux des câpres chez le câprier épineux et le câprier inerme, est basée sur l'utilisation de solvants organiques pour extraire la totalité des lipides polaires et apolaires.

5g de poudre de matière végétale est macérée par une solution de chloroforme/méthanol (2v/1v). Après 24 heures, les macérats ont été filtrés par un papier filtre et centrifugé pendant 10 min. Après séchage, les extraits ont été conservés à 4°C et à l'abri de la lumière.

#### 2.2. Préparation d'esters méthyliques d'acides gras

Les esters méthyliques d'acides gras ont été dérivés des échantillons lipidiques, huiles fixes. En bref, des échantillons de lipides séchés ont été dissous dans d'hexane, puis une solution méthanolique a été additionnée. Après agitation et incubation pendant 30 secondes, le



mélange a été centrifugé à une vitesse de 1000 rpm/min. La phase organique est alors récupérée. Elle contient les esters méthyliques d'acides gras.

### **2.3. Identification des acides gras par Chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC-MS)**

L'identification de la composition en acides gras des câpres a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Le chromatographe utilisé est de type Agilent 7890A équipé d'un injecteur diviseur programmé à 250 °C, d'une colonne capillaire polaire de type HP-5MS (30 m x 0,25 mm ; 0,25 μm) et d'un détecteur de masse sélectif de type Agilent 5975C MSD. L'hélium est le gaz vecteur utilisé avec un débit de 0,8 ml/min. La température du four est programmé de 150 à 250 °C à raison de 4°C/min puis maintenue isotherme pendant 10 min à 250°C. 1 μl de chaque échantillon sont injectés en mode split. L'identification des acides gras est effectuée par la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux enregistrés dans la base de données NIST08 et W8N08.

### **3. Calcul du rendement**

Le rendement de l'extrait ou des huiles fixes est le rapport entre la masse de l'extrait ou de l'huile fixe obtenue et la masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction. Il est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M_e / M_{mv}) * 100$$

avec  $M_e$  est la masse de l'extrait ou de l'huile fixe obtenue en g et  $M_{mv}$  est la quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

### **4. Dosage des composés phénoliques**

#### **4.1. Dosages des polyphénols totaux**

La teneur phénolique des différents extraits chez le câprier épineux et le câprier inerme est déterminée par dosage colorimétrique en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. En effet, le Folin-Ciocalteu est réduit en milieu alcalin par les polyphénols en un mélange bleu. L'intensité de la coloration bleu produite est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans l'extrait.

Un volume de 0,5 ml de chaque extrait dilué est additionné de 2,5 ml du réactif Folin-Ciocalteu (10 %). Après agitation vigoureuse et un repos de 3 minutes, une prise de 2 ml de carbonate de sodium 7 % ( $Na_2CO_3$ ) est additionnée au milieu réactionnel. Ainsi, le mélange



obtenu est incubé pendant 90 minutes à température ambiante et à l'obscurité. La lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm. Trois répétitions ont été réalisées. En se référant à une courbe de gamme étalon préparée avec l'acide gallique (à des concentrations variables), les teneurs en polyphénols totaux sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MS).

#### 4.2. Dosages des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les flavonoïdes contiennent des groupements hydroxyde (OH) libres en position 5. Ces derniers forment des complexes qui donnent une couleur jaunâtre par chélation de l'ion  $Al^{3+}$ . L'intensité de la couleur dépend de la concentration des flavonoïdes dans l'extrait à tester.

Une prise de 1 ml de chaque extrait dilué est mélangée avec 1 ml d' $AlCl_3 \cdot 6H_2O$  (2 %). Après une incubation de 45 minutes à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 415 nm. Pour chaque échantillon l'expérience est répétée 3 fois. La gamme étalon est préparée avec de la rutine. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg équivalent rutine par gramme de matière végétale sèche (mg ER/g MS).

#### 4.3. Dosages des flavonols

La teneur en flavonols a été déterminée selon la méthode colorimétrique. Le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) forme un complexe d'acides stables avec les groupes hydroxyles en C3, C4 et en C5 des flavonols. La réaction développe une coloration jaune mesurable à 440 nm.

Une prise de 1 ml de l'extrait dilué est mélangée avec 1 ml d' $AlCl_3 \cdot 6H_2O$  (2%) et 3 ml d'acétate de sodium (5%). La densité optique est mesurée à 440 nm. Le milieu réactionnel est de couleur jaune claire. Pour chaque échantillon trois répétitions ont été réalisées. Le contenu en flavonols est déterminé à l'aide d'une gamme étalon de quercétine. Les flavonols totaux sont estimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g MS).

#### 4.4. Dosages des tannins condensés

En présence de HCl concentré, les tannins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge colorimétriquement quantifiable à une longueur d'onde de 500 nm.



Un volume de 50 µl de l'extrait convenablement dilué est mélangé avec 3 ml de vanilline (4 %), puis additionné de 1,5 ml de HCl concentré. L'absorbance est mesurée à 500 nm. Pour chaque échantillon trois répétitions sont considérées. La courbe d'étalonnage est réalisée par la catéchine à différentes concentrations et dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Les teneurs en tannins condensés sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g MS).

#### 4.5. Dosage des chlorophylles, β-carotène et caroténoïdes totaux

Pour mesurer les teneurs en caroténoïdes totaux, en chlorophylles et en β-carotène, 1 g d'échantillon végétal est homogénéisé avec 5 ml d'acétone dans un mortier en porcelaine froid dans un bain de glace. Ensuite, 1 g de sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) est ajouté à l'homogénat, qui est décanté en utilisant un filtre en papier. La solution filtrée est complétée à 10 ml avec de l'acétone et centrifugée à 2600 x g pendant 10 min. La phase supérieure est collectée et l'absorbance de la solution à 662, 645 et 470 nm est mesurée. Les teneurs en caroténoïde et en β-carotène sont calculées en utilisant les formules suivantes :

$$Cl_a = 11,75A_{662} - 2,350A_{645}$$

$$Cl_b = 18,61A_{645} - 3,960A_{662}$$

$$CTC = 1000A_{470} - 2,270Cl_a - 81,4Cl_b/227$$

$$\beta\text{-carotene} = 0,854A_{479} - 0,312A_{645} + 0,039A_{663} - 0,005$$

Où Cl<sub>a</sub> = Chlorophylle a, Cl<sub>b</sub> = Chlorophylle b, CTC = Contenu total en caroténoïdes et A = absorbance.

#### 4.6. Teneur en anthocyanes totaux

Pour la détermination de la teneur en anthocyanes totaux, les échantillons végétaux sont homogénéisés dans de l'eau et incubées pendant 30min. Après centrifugation, l'absorbance du surnageant est mesurée à 525 nm et la teneur en anthocyanes totaux est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Teneur en anthocyanes totaux (mg/g)} = (A_{525} \times 10/1000 \times \text{volume ajouté à la prise d'essai (ml)} \times \text{facteur de dilution/poids de l'échantillon (g)})$$

#### 4.7. Dosages des sucres solubles

La teneur en sucres solubles est déterminée par simple lecture sur un réfractomètre en mettant quelques gouttes de la solution sur le prisme porte-goutte. Le réfractomètre est gradué en degrés Brix qui est la teneur en sucres pour 100g de solution.



## 5. Analyse statistique des résultats

Toutes les mesures ont été effectuées en triple dont le but de s'assurer de la reproductibilité des résultats. Les différences quantitatives entre les échantillons, pour chaque espèce, ont été évaluées par des analyses de variance à un seul facteur de classification suivie par une comparaison des moyennes par le test de Duncan au seuil de 5% (Dagnelie, 1975) moyennant le programme SAS (1990).

## III. Résultats

### 1. Evaluation biochimique du *Capparis spinosa* subsp. *spinosa* L. et *Capparis spinosa* subsp. *rupestris* L.

#### 1.1. Composition chimique des acides gras

L'étude de la composition chimique des acides gras des câpres de *Capparis spinosa* subsp. *spinosa* et *Capparis spinosa* subsp. *rupestris*, effectuée moyennant la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), vise la détermination des variations de chaque acide gras entre les sous-espèces et entre les localités (Tableau 12 et Figure 14).

Globalement, onze acides gras représentant la fraction saponifiable de l'huile fixe de l'espèce *Capparis spinosa* sont identifiés. Trois acides gras majoritaires ont été notés : l'acide alpha-linolénique (C18:3, 43,93 %), l'acide palmitique (C16:0, 26,30 - 32,98 %) et l'acide linoléique (oméga 6) (C18:0, 12,20 - 26,60 %) (Tableau 12). La proportion minoritaire inclut les acides tricosylique, tétratriacontanoïque et palmitoléique. Les acides gras polyinsaturés (AGPI) constituent la fraction majoritaire suivis par les acides gras saturés et les acides gras monoinsaturés (Tableau 12).

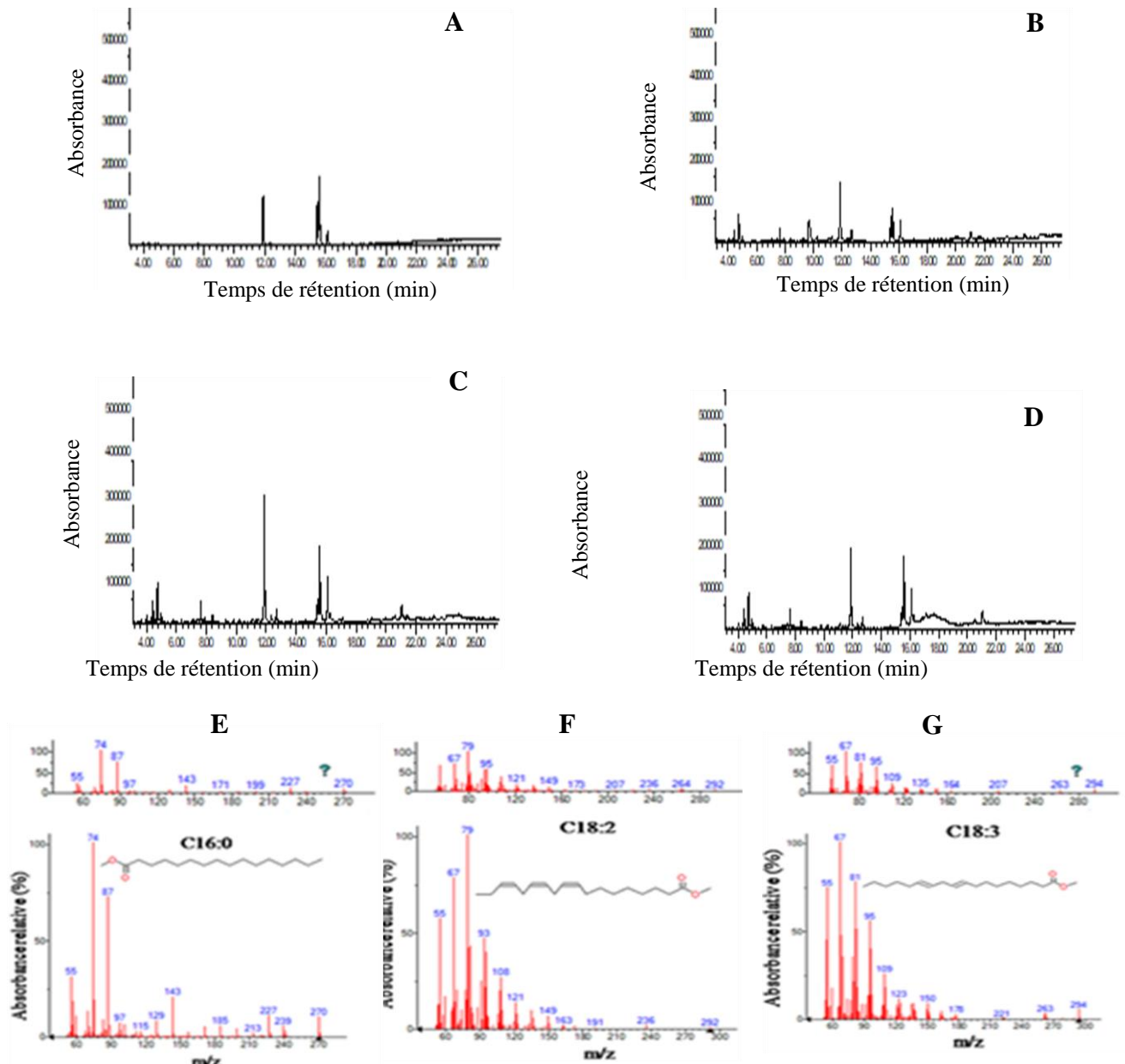
Chez *C. spinosa* subsp. *spinosa* (le câprier épineux), sept acides gras dont les acides palmitique (C16:0, 28,78 %) et oléique (oméga 9) (C18:1, 18,04 %), représentant les composés majeurs chez la localité 2, sont identifiés. Alors que, l'huile fixe des câpres de la localité 1 renferme quatre acides gras et se distingue par l'acide gras polyinsaturé l'acide alpha-linolénique (C18:3) avec une teneur de 43,93% (Tableau 12 et Figures 14A et 14B).

Pour les deux localités de 3 et 4, la fraction saponifiable de l'huile fixe du câprier inerme (*C. spinosa* ssp. *inermis*) est riche en acide palmitique et en acide linoléique. Toutefois, les



câpres de la localité 4 se caractérisent par la présence de l'acide gras monoinsaturé l'acide palmitoléique (C16) (Tableau 12 et Figures 14C et 14D).

Certains acides gras différencient nettement les deux sous-espèces. Toutefois, l'acide palmitoléique (localité 4), l'acide *cis*-linoléique et l'acide oléique amide ont été observés uniquement chez les câpres du câprier inerme, et les acides phtalique butyl-octyl-ester (localité 3), oléique (localité 2) et  $\alpha$ -linoléénique (localité 1) ont été détectés uniquement chez le câprier épineux (Tableau 12).



**Figure 14 :** Chromatogrammes d'acides gras identifiés dans les boutons floraux de *C. spinosa* ssp. *spinosa* (A et B) et *C. spinosa* ssp. *rupestris* (C et D).

(A) : Localité 1 ; (B) : Localité 2 ; (C) : Localité 4 ; (D) : Localité 3. (E), (F), (G) : Spectres de masse relatifs aux acides palmitique (C16 :0), linoléique (C18 :2) et oléique (C18 :1).



**Tableau 12.** Composition (%) en acides gras des câpres de *C. spinosa* subsp. *spinosa* et *C. spinosa* subsp. *inermis* de différentes localités.

Espèces	Localités	Essais	DPPH	ABTS
			CI <sub>50</sub> (µg/ml)	(µg ET/mg MS)
<i>C. spinosa</i> ssp. <i>spinosa</i>	1	<b>Extrait éthanolique</b>		
		Feuilles	35,22 ± 0,9 <sup>c</sup>	110,55 ± 1,2 <sup>a</sup>
		Câpres	43,81 ± 0,7 <sup>bc</sup>	78,1 ± 0,91 <sup>bcd</sup>
		<b>Extrait aqueux</b>		
		Feuilles	52,27 ± 0,35 <sup>b</sup>	96,12 ± 0,35 <sup>b</sup>
		Câpres	59,35 ± 0,22 <sup>b</sup>	62,4 ± 0,66 <sup>cd</sup>
		<b>Huile fixe</b>		
	Câpres	182,25 ± 0,1 <sup>a</sup>	53,3 ± 0,7 <sup>d</sup>	
	2	<b>Extrait éthanolique</b>		
		Feuilles	38,47 ± 0,1 <sup>c</sup>	98,59 ± 0,88 <sup>b</sup>
		Câpres	42,77 ± 0,4 <sup>bc</sup>	82,11 ± 0,71 <sup>bc</sup>
		<b>Extrait aqueux</b>		
Feuilles		49,42 ± 0,88 <sup>bc</sup>	72,32 ± 0,77 <sup>bcd</sup>	
Câpres		54,27 ± 0,54 <sup>b</sup>	58,91 ± 0,22 <sup>cd</sup>	
	<b>Huile fixe</b>			
Câpres	175,66 ± 0,23 <sup>a</sup>	42,56 ± 0,19 <sup>e</sup>		
<i>C. spinosa</i> ssp. <i>rupestris</i>	3	<b>Extrait éthanolique</b>		
		Feuilles	68,22 ± 0,9 <sup>c</sup>	62,89 ± 0,7 <sup>d</sup>
		Câpres	71,09 ± 0,7 <sup>c</sup>	60,59 ± 0,56 <sup>d</sup>
		<b>Extrait aqueux</b>		
		Feuilles	57,45 ± 0,21 <sup>cd</sup>	110,88 ± 0,45 <sup>a</sup>
		Câpres	59,38 ± 0,66 <sup>cd</sup>	96,22 ± 0,7 <sup>b</sup>
		<b>Huile fixe</b>		
	Câpres	122,44 ± 0,7 <sup>a</sup>	44,59 ± 0,23 <sup>e</sup>	
	4	<b>Extrait éthanolique</b>		
		Feuilles	54,86 ± 0,7 <sup>cd</sup>	73,18 ± 0,19 <sup>c</sup>
		Câpres	55,22 ± 0,5 <sup>cd</sup>	62,99 ± 0,72
		<b>Extrait aqueux</b>		
Feuilles		47,35 ± 0,9 <sup>d</sup>	101,99 ± 1,17 <sup>a</sup>	
Câpres		51,69 ± 0,9 <sup>cd</sup>	86,1 ± 0,42 <sup>bc</sup>	
	<b>Huile fixe</b>			
Câpres	108,80 ± 0,9 <sup>b</sup>	39,99 ± 0,11 <sup>e</sup>		

Pour l'ensemble des localités, la fraction saponifiable de l'huile fixe des câpres du câprier épineux (ssp. *spinosa*) présente des pourcentages significativement plus élevés en acides



gras polyinsaturés et monoinsaturés comparés à celle du câprier inerme. Cependant, les acides gras saturés sont les plus prédominants chez le câprier inerme. En revanche, l'huile de *C. spinosa* ssp. *inermis*, extraite à partir des câpres, présente une abondance en oméga 9 et en oméga 6, alors que l'huile de *C. spinosa* ssp. *spinosa* est plus riche en oméga 3 (Tableau 12).

La composition chimique de l'huile fixe de *Capparis spinosa* a fait l'objet de nombreux travaux de recherche. Nos résultats sont en accord avec ceux de Matthäus et Özcan (2005) et Tlili et al. (2009) qui ont rapporté un profil chimique similaire caractérisé par, une forte teneur en acides gras insaturés, représentant environ 70% de la fraction saponifiable, avec une dominance de l'acide linoléique (>31,42 %), l'acide oléique (>39,87 %) et l'acide linoléique (>20,5 %). En outre, des valeurs comparables des teneurs en acides gras insaturés à savoir l'acide linoléique (25 – 51 %) et l'acide oléique (15 – 37 %) de l'huile de *C. spinosa* ont été rapportées par Akgül et Ozcan (1999).

En revanche, nos résultats affichent la richesse des câpres des câpriers inerme et épineux en acide palmitique et en acide stéarique par rapport à l'huile fixe des graines chez *C. spinosa* (12 % et 3 %, respectivement) (Matthäus et Özcan, 2005).

## 1.2. Teneurs en composés phénoliques

L'extraction des feuilles et des boutons floraux par l'éthanol et l'eau distillée chez les deux sous-espèces du câprier a généré une variation significative du rendement des extraits selon les localités, la nature du matériel végétal, les solvants d'extraction et selon l'espèce.

Les deux sous-espèces de *Capparis spinosa* présentent des rendements plus ou moins élevés avec une prédominance des rendements des extraits des boutons floraux. Ainsi, les extraits aqueux des feuilles et des câpres de *C. spinosa* ssp. *rupestris* de la localité 2 montrent les rendements les plus élevés, respectivement, suivi de ceux de *C. spinosa* ssp. *spinosa* de la même localité. Cependant, les extraits éthanoliques des feuilles du câprier inerme de la localité 4 révèlent le rendement le plus faible. Ainsi, cette variation peut être attribuée à la polarité des différents composés au niveau de différents organes. En revanche, l'origine géographique de la plante, la période de la récolte, la durée et les conditions de stockage et de conservation influencent également le rendement d'extraction.

Le dosage des composés phénoliques, au niveau des différents extraits des feuilles et des boutons floraux chez les deux sous-espèces étudiées montre des variations significatives d'une part entre les deux organes de la plante et entre les différents extraits au sein de la même sous-espèce et d'autre part entre les sous-espèces (Tableau 13).



Les teneurs en composés phénoliques ont été déterminées par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu et les résultats ont été exprimés en équivalents d'acide gallique. L'analyse des résultats révèle la richesse des différents extraits des feuilles et des câpres de deux sous-espèces de *Capparis spinosa* en composés phénoliques. Ainsi, le tableau 5 montre globalement que les feuilles sont plus riches en polyphénols totaux que les boutons floraux.

Pour la sous-espèce *C. spinosa* ssp. *spinosa* (câprier épineux), les teneurs en polyphénols totaux varient entre 128,75 et 242,67 mg EAG/g MS. La concentration la plus élevée a été observée au niveau de l'extrait éthanolique des feuilles chez la localité 1, alors que la teneur la plus faible a été détectée au niveau des extraits aqueux des câpres de la même localité (Tableau 13).

Chez le câprier inerme (*C. spinosa* ssp. *rupestris*), la teneur des composés phénoliques des feuilles (localité 3) extraites dans l'eau est la plus élevée ( $265,86 \pm 3,8$  mg EAG/g MS), suivi des extraits aqueux des feuilles et des câpres de la région 4 (201,08 et 182,03 mg EAG/g MS, respectivement), tandis que l'extrait éthanolique des câpres de 3 a montré la teneur la plus faible ( $61,89 \pm 2,2$  mg EAG/g MS).

L'analyse de nos résultats pour les deux sous-espèces a montré que le câprier inerme est plus riche en composé phénolique que le câprier épineux.

### 1.3. Teneurs des flavonoïdes totaux et des flavonols

Les dosages des flavonoïdes et des flavonols ont été effectués en utilisant respectivement la rutine et la quercétine comme standards. Cette quantification a révélé que les deux câpriers (inerme et épineux) sont riches en flavonoïdes et en flavonols, et que leurs proportions varient considérablement entre les organes étudiés (Tableau 13).

Les résultats obtenus révèlent que les feuilles présentent les teneurs les plus importantes en flavonoïdes et en flavonols, de l'ordre de  $92,65 \pm 1,8$  mg ER/g MS et de  $19,41 \pm 0,7$  mg EQ/g MS pour les extraits éthanoliques chez *C. spinosa* ssp. *spinosa* (localité 1) (Tableau 5). En ce qui concerne les extraits de *C. spinosa* ssp. *inermis*, les extraits aqueux des feuilles, de la localité 2, ont rendu les fortes teneurs ( $89,76 \pm 1,5$  mg ER/g MS en flavonoïdes et  $17,88 \pm 0,9$  mg EQ/g MS en flavonols), suivie par les extraits aqueux des feuilles de la localité 4 ( $68,68 \pm 1,5$  mg ER/g MS et  $14,76 \pm 0,7$  mg EQ/g MS, respectivement). Cependant, les extraits éthanoliques des câpres ont montré les faibles teneurs ( $28,58 \pm 1,1$  mg ER/g MS en flavonoïdes et  $4,88 \pm 0,6$  mg EQ/g MS en flavonols).

**Tableau 13.** Teneurs des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles et des câpres de *Capparis spinosa* subsp. *spinosa* et *C. spinosa* subsp. *rupestris* en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tannins.

Espèces	Localités	Extraits	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg ER/g MS)	Flavonols (mg EQ/g MS)	Tannins (mg EC/g MS)	
<i>C. spinosa spinosa</i>	ssp. 1	<b>Extrait éthanolique</b>					
		Feuilles	242,67 ± 4,2 <sup>a</sup>	92,65 ± 1,8 <sup>a</sup>	19,41 ± 0,7 <sup>a</sup>	15,73 ± 1,1 <sup>a</sup>	
		Câpres	184,77 ± 3,5 <sup>b</sup>	61,9 ± 0,9 <sup>c</sup>	11,76 ± 0,6 <sup>cd</sup>	11,03 ± 0,4 <sup>b</sup>	
		<b>Extrait aqueux</b>					
		Feuilles	144,45 ± 2,2 <sup>c</sup>	72,32 ± 1,2 <sup>bc</sup>	10,07 ± 0,2 <sup>d</sup>	9,35 ± 0,2 <sup>c</sup>	
		Câpres	128,75 ± 1,9 <sup>c</sup>	50,54 ± 0,8 <sup>d</sup>	8,63 ± 0,7 <sup>e</sup>	7,44 ± 0,3 <sup>d</sup>	
		2	<b>Extrait éthanolique</b>				
	Feuilles		179,83 ± 1,2 <sup>b</sup>	83,21 ± 1,8 <sup>b</sup>	14,65 ± 0,9 <sup>b</sup>	11,01 ± 0,4 <sup>b</sup>	
	Câpres		162,15 ± 2,5 <sup>bc</sup>	51,28 ± 1,3 <sup>d</sup>	7 ± 0,2 <sup>ef</sup>	10,29 ± 0,7 <sup>bc</sup>	
	<b>Extrait aqueux</b>						
Feuilles	162,85 ± 1,1 <sup>bc</sup>		77,94 ± 0,8 <sup>bc</sup>	12,32 ± 0,6 <sup>c</sup>	7,86 ± 0,2 <sup>d</sup>		
	Câpres	141,71 ± 1,8 <sup>c</sup>	40,88 ± 0,5 <sup>e</sup>	6,79 ± 0,3 <sup>f</sup>	5,59 ± 0,5 <sup>e</sup>		
<i>C. spinosa rupestris</i>	ssp. 3	<b>Extrait éthanolique</b>					
		Feuilles	67,51 ± 1,2 <sup>d</sup>	39,67 ± 1,2 <sup>cd</sup>	5,94 ± 0,7 <sup>de</sup>	17,85 ± 0,7 <sup>a</sup>	
		Câpres	61,89 ± 2,2 <sup>d</sup>	28,58 ± 1,1 <sup>d</sup>	4,88 ± 0,6 <sup>e</sup>	15,02 ± 0,2 <sup>ab</sup>	
		<b>Extrait aqueux</b>					
		Feuilles	265,86 ± 3,8 <sup>a</sup>	89,76 ± 1,5 <sup>a</sup>	17,88 ± 0,9 <sup>a</sup>	14,97 ± 1,1 <sup>ab</sup>	
		Câpres	177,85 ± 2,2 <sup>bc</sup>	66,94 ± 1,1 <sup>b</sup>	10,12 ± 0,5 <sup>c</sup>	12,96 ± 4,2 <sup>b</sup>	
		4	<b>Extrait éthanolique</b>				
	Feuilles		146,64 ± 1,5 <sup>c</sup>	48,56 ± 1,2 <sup>c</sup>	8,91 ± 0,2 <sup>cd</sup>	15,62 ± 0,7 <sup>ab</sup>	
	Câpres		133,83 ± 1,8 <sup>c</sup>	40,45 ± 1,1 <sup>cd</sup>	6,66 ± 0,7 <sup>d</sup>	12,85 ± 0,2 <sup>b</sup>	
	<b>Extrait aqueux</b>						
Feuilles	201,08 ± 3,2 <sup>b</sup>		68,68 ± 1,5 <sup>b</sup>	14,76 ± 0,7 <sup>b</sup>	9,71 ± 0,2 <sup>c</sup>		
	Câpres	182,03 ± 1,7 <sup>bc</sup>	50,18 ± 1,2 <sup>c</sup>	10,38 ± 0,9 <sup>c</sup>	8,59 ± 0,4 <sup>c</sup>		

Les valeurs moyennes dans chaque colonne pour chaque espèce suivies par des lettres différentes sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).



#### 1.4. Teneurs des tannins condensés

Le dosage des tannins condensés des extraits éthanoliques et aqueux chez le câprier inerme et le câprier épineux par la méthode de condensation de catéchine témoignent la richesse de ces sous-espèces en tannins condensés.

D'après les résultats illustrés dans le tableau 5 une variation des teneurs en tannins selon l'organe de la plante est constatée. En effet, la fraction éthanolique des feuilles renferme les plus importantes teneurs en tannins pour *C. spinosa* ssp. *inermis* et *C. spinosa* ssp. *spinosa*, respectivement de l'ordre de  $17,85 \pm 0,7$  mg EC/g MS et  $15,73 \pm 1,1$  mg EC/g MS. En revanche, la fraction aqueuse des câpres enregistre des teneurs plus faibles pour les deux câpriers (câprier épineux :  $5,59 \pm 0,5$  mg EC/g MS ; câprier inerme :  $8,59 \pm 0,4$  mg EC/g MS).

#### 1.5 Teneur en Chlorophylles, $\beta$ -carotènes et caroténoïdes totaux

Les teneurs en Cla, Clb,  $\beta$ -carotène et caroténoïdes totaux (TCT) sont testées pour le genre *Capparis*. Deux sous espèces (*Capparis spinosa* ssp *spinosa* et *Capparis spinosa* ssp *inermis*), huit sites et deux organes (boutons floraux et fruits) ont été évalués dans cette étude. Les teneurs en chlorophylles (a et b) sont plus importantes comparées à celles de  $\beta$ -carotène et les résultats sont variables entre les sites (Tableau 14). Les valeurs de chlorophylle a varient entre 13,20 et 52,00  $\mu\text{g/g}$  MF et celles de chlorophylle b varient entre 6,76 et 48,84  $\mu\text{g/g}$  MF. Les teneurs en  $\beta$ -carotène sont comprises entre 0,85 et 7,77  $\mu\text{g/g}$  MF et celles en TCT sont comprises entre 1,17 et 10,12 mg/g MF.

**Tableau 14:** Teneurs en Chlorophylles,  $\beta$ -carotène et caroténoïdes totaux chez différentes espèces de *Capparis* collectées de différentes régions de la Tunisie

Espèce	Sites	Organe	<sup>1</sup> Cla	<sup>1</sup> Clb	<sup>1</sup> $\beta$ -carotène	<sup>2</sup> TCT
<i>Capparis épineux</i>	Site 1	Boutons floraux	42,04 $\pm$ 5,76	29,29 $\pm$ 4,91	5,07 $\pm$ 1,71	6,57 $\pm$ 2,10
	Site 2	Boutons floraux	28,62 $\pm$ 3,03	30,72 $\pm$ 4,25	5,83 $\pm$ 0,53	7,48 $\pm$ 0,70
<i>Capparis inerme</i> ( <i>épine fine</i> )	Site 3	Boutons floraux	13,20 $\pm$ 1,35	6,76 $\pm$ 0,65	0,85 $\pm$ 0,08	1,17 $\pm$ 0,10
	Site 4	Boutons floraux	50,26 $\pm$ 2,29	42,24 $\pm$ 4,83	6,67 $\pm$ 1,27	8,70 $\pm$ 1,47
	Site 5	Boutons floraux	42,85 $\pm$ 10,74	38,16 $\pm$ 7,76	6,91 $\pm$ 1,24	8,89 $\pm$ 1,60
		Fruits	26,19 $\pm$ 4,10	45,89 $\pm$ 4,55	7,18 $\pm$ 1,24	9,35 $\pm$ 1,36
<i>Capparis inerme</i>	Site 6	Boutons floraux	46,29 $\pm$ 7,17	38,17 $\pm$ 4,73	5,96 $\pm$ 0,85	7,78 $\pm$ 0,91
	Site 7	Boutons floraux	36,65 $\pm$ 1,75	36,43 $\pm$ 3,47	4,48 $\pm$ 0,51	6,26 $\pm$ 1,00
	Site 8	Boutons floraux	52,00 $\pm$ 3,85	48,84 $\pm$ 0,62	7,77 $\pm$ 2,07	10,12 $\pm$ 2,42

<sup>1</sup>Les teneurs en Chlorophylles a (Cla) et b (Clb) et en  $\beta$ -carotène sont exprimés en  $\mu\text{g/g}$  MF

<sup>2</sup> Les teneurs en caroténoïdes totaux (TCT) sont exprimés en mg/g MF



## 1.6 Teneur en sucre

Les teneurs en sucre sont mesurées sur des échantillons de boutons floraux appartenant à trois espèces de *Capparis*; épineux (un site), inerme avec épines fines (trois sites) et inerme (quatre sites). Un seul fruit de l'espèce inerme a été testé. Les résultats varient entre 2,40 et 6,10% (Tableau 15). Des variations entre les sites ont été enregistrées pour la même espèce et le même organe.

**Tableau 15:** Teneurs en sucre chez différentes espèces de *Capparis* collectées de différentes régions de la Tunisie

Espèce	Sites	Organe	Degré Brix (%)
<i>Capparis épineux</i>	Site 1	Boutons floraux	3,15±0,21
	Site 2	Boutons floraux	4,35±0,21
<i>Capparis inerme (épine fine)</i>	Site 3	Boutons floraux	6,10±0,28
	Site 4	Boutons floraux	2,95±0,07
<i>Capparis inerme</i>	Site 5	Boutons floraux	3,15±0,35
		Fruits	3,05±0,49
	Site 6	Boutons floraux	2,40±0,14
	Site 7	Boutons floraux	3,60±0,14
	Site 8	Boutons floraux	4,00±0,28

## IV. Conclusion

Dès nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent des applications multiples dans divers domaines à savoir dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et surtout en pharmacie (Celiktas et *al.*, 2007; Mebarki, 2010). Ce regain d'intérêt croissant est dû d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable d'une immense variété des molécules bioactives, et d'autre part aux effets secondaires induits par les médicaments pour l'organisme.

Parmi les plantes médicinales à usages alimentaires les plus populaires et fréquemment utilisées en médecine traditionnelle tunisienne se trouvent le câprier épineux (*C. spinosa* subsp. *spinosa*) et le câprier inerme (*C. spinosa* subsp. *rupestris*) sur lesquels porte le présent travail. Elles sont utilisées comme épices et elles sont de plus en plus exploitées par les industries pharmaceutiques et agroalimentaires.





Dans ce contexte, nous avons mis en relief les potentialités biologiques des différents extraits du câprier inerme et câprier épineux, collectés dans la région de Béja, Mateur et Ichkeul, à travers l'identification des acides gras de la fraction saponifiable de l'huile fixe des câpres, ainsi que la quantification des composés phénoliques des feuilles et des câpres, et la détermination de leurs pouvoirs antioxydant et inhibiteurs d'enzymes impliquées dans les maladies humaines.

L'analyse de la composition chimique des acides gras des câpres de deux espèces effectuée par *GC-MS*, révèle onze acides gras représentant globalement la fraction saponifiable de l'huile fixe de *Capparis spinosa*. Ainsi, ces analyses ont prouvée également la richesse du câprier inerme et de câprier épineux en acides gras mono et polyinsaturés, qui sont essentiels dans l'alimentation humaine car ils ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme et ils sont très importants pour le système immunitaire humain, pour la régulation de la pression artérielle et pour le soulagement des différentes maladies. En outre, l'huile fixe de *C. spinosa* ssp. *inermis* se caractérise par des teneurs élevés en acide oléique, acide oléique amide, acide *cis*-linoléique et acide linoléique, alors que l'huile de *C. spinosa* ssp. *spinosa* est plus riche en acide  $\alpha$ -linoléique. De ce fait, cette composition des huiles fixes a permis d'évaluer la valeur nutritionnelle des câpres analysées.

De même, les résultats obtenus montrent que les extraits aqueux et éthanoliques du câprier inerme sont plus riches en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et en tannins que ceux du câprier épineux, avec une variation significative entre les feuilles et les câpres.