

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMEN  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
ET DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de Fin d'Étude pour l'Obtention du Diplôme de Master en biologie

Option : Biochimie appliquée

Laboratoire des produits naturels

Thème:

*Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation du  
pouvoir antioxydant des extraits de la fleur du figuier  
de Barbarie  
(*Opuntia ficus indica*) de la région de Tlemcen*

Présenté par :

Mr MEDJADJI Med Abdelsselem

Soutenu en Juillet 2012 devant le jury composé de :

Président	M <sup>me</sup> BOUCHERIT Z	Maître de conférences	U.A.B.B
Examineur	M <sup>lle</sup> BENARIBA N	Maitre assistant	U.A.B.B
Promoteur	Mr BEGHAD M.C	Maitre de conférences	U.A.B.B

Année universitaire : 2011 / 2012

## *Remerciements*

Mes vifs remerciements s'adressent à **Mr. BEGHAD M.C.**, Maitre de Conférences au département de médecine de l'université de Tlemcen, qui m'a permis de réaliser cette étude. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance, pour ses précieux conseils, ses orientations bienveillantes, son infatigable dévouement, sa disponibilité et son soutien moral.

J'exprime ma profonde gratitude à **Mme. BOUCHERIT Z.**, Maitre de conférences à l'université de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire. Trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

Je tiens à remercier **Mme. B ENARIBA N.**, Maitre assistante classe A, au département de biologie de l'université de Tlemcen, pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de faire partie du jury. Qu'elle trouve ici ma profonde reconnaissance et toute ma gratitude.

Un grand merci Mademoiselle **DIB Hanane**, qui n'a pas hésité à m'aider à la réalisation de ce travail, aussi à tous les membres du laboratoire des produits naturels (LAPRONA) de l'université de Tlemcen.

## *Dédicace*

*Au Nom de Dieu tout puissant, qui nous a éclairé les chemins du savoir et de la sagesse, je dédie ce travail avec toute mon affection :*

*Je dédie ce modeste travail aux deux être les plus chères de ma vie qui ont su m'apporter tendresse et amour, mes très chères parents et a ma tante Karima, toujours soucieux de ma réussite, en témoignage du respect et de la gratitude que je leurs porte.*

*A :*

*Mon oncle Benali, sa femme chahida et a mes cousine Nassima et Kawter ;*

*Mon deuxième oncle Azzedine, sa femme Bahidja et leur enfants ;*

*Mon oncle Hadj, sa famille et ma tonte Badia ;*

*Ma tante Fatima et ces enfants Sidi Mohamed et Ikram ;*

*Abdeladim, et toute ma famille ;*

*Mon ami Ahmed et tous mes autres amis ;*

*Tous les compagnons (tes) de mon parcours.*

**«La reconnaissance est la mémoire du cœur..»**

**Hans Christian Andersen**

## Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle. Notre travail vise à faire une étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits de la fleur d'*Opuntia ficus indica*. Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des anthocyanes et des alcaloïdes dans notre fleur. La teneur en phénols totaux est variable. Les extraits des phénols totaux a présenté la teneur la plus élevée (253.9 mg/100g), pour les flavonoïdes, elle est de (91.48 mg/100g), alors que pour les tanins totaux (40 mg/100g), pour les tanins hydrolysables (38 mg/ml) et pour les tanins condensés (1.33 mg/ml). L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par deux méthodes ; la réduction du fer (FRAP) et le piégeage du radical libre DPPH. La capacité de réduction de fer est remarquable dans l'extrait des flavonoïdes fraction acétate d'éthyle (0.075 mg/ml) et qui est supérieure à celle de l'acide ascorbique (0.1 mg/ml). La fraction acétate d'éthyle des fleurs a présenté une activité antioxydante intéressante ( $IC_{50} = 0.41$  mg/ml) et qui est très proche à la capacité du piégeage du radical DPPH· de l'acide ascorbique dont ( $IC_{50} = 00.12$  mg/ml).

**Mots clés :** *Opuntia ficus indica*, étude phytochimique, flavonoïdes, tanins, anthocyanes, alcaloïdes, activité antioxydante, FRAP et DPPH.



## **Abstract**

Much of the interest of current research involves the study of antioxidant molecules of natural origin. Our work aims to study phytochemical and antioxidant activity of extracts of the flower of *Opuntia ficus indica*. The phytochemical tests carried out have led to identification of flavonoids, tannins, anthocyanins and alkaloids in our flower. The total phenolic content is variable. The extract of total tannins presented the highest content (400 mg/100 g), for hydrolyzable tannins, it is (280 mg/100 g), whereas flavonoids (91.48 mg/100g), for phenols (25.39 mg/100g), condensed tannins and (2.33 mg/100g). The antioxidant activity of different extracts was evaluated by two methods; iron reduction and trapping of free radical DPPH. The ability to reduce iron is remarkable in the extract flavonoids fraction and ethyl acetate which is greater than that of ascorbic acid. The ethyl acetate fraction of flowers presented an interesting antioxidant activity ( $IC_{50} = 0.41$  mg / ml) and which is very close to the capacity of trapping of the radical DPPH • with ascorbic acid( $IC_{50}=0.12$ mg/ml).

**Keywords:** *Opuntia ficus indica*, phytochemical study, flavonoids, tannins, anthocyanins, alkaloids, antioxidant activity, DPPH and FRAP.

## الملخص

الكثير من الاهتمام من البحوث الحالية تشتمل على دراسة الجزيئات المضادة للأكسدة ذات الأصل الطبيعي. عملنا يهدف إلى دراسة النباتية والنشاط المضادة للأكسدة من مقتطفات من زهرة بونتيا إندিকা اللبخ.

أجرى اختبارات النباتية خارج أدت إلى تحديد، الانثوسيانين الفلافونويد والعفص وقلويدات في زهرة لدينا. المحتوى الفينولي إجمالي متغير. المستخلص من العفص مجموع قدم على أعلى محتوى (400 mg/100 ز)، للعفص hydrolyzable، فمن (280 mg/100 ز)، في حين أن مركبات الفلافونويد (91،48 mg/100g)، لفينولات (25.39 mg/100g)، مكثف والعفص (2.33 mg/100g).

وتم تقييم النشاط المضادة للأكسدة من مقتطفات مختلفة من قبل اثنين من الطرق، والحد من الحديد ومحاصرة من DPPH الجذور الحرة. القدرة على الحد من حديد لافيت للنظر في استخراج جزء فلافونيدات وخلات الإيثيل التي هي أكبر من حمض الاسكوربيك. قدم جزء خلالات الإيثيل من الزهور على نشاط مضادات الأكسدة مثيرة للاهتمام (50IC = 0.41 ملغ / مل)، والتي هي قريبة جدا من قدرة محاصرة من DPPH جذري • مع حمض الاسكوربيك (50IC = 00.12 ملغ / مل).

**كلمات البحث:** بونتيا إندিকা اللبخ، دراسة النباتية، الفلافونويد والعفص، الانثوسيانين، قلويدات، والنشاط المضادة للأكسدة، وDPPH FRAP.

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Résumé**

**Tables des matières**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction générale**

02

**Chapitre I : Généralités sur le figuier de barbarie  
(*Opuntia ficus indica*)**

1. Description du figuier de barbarie ( <i>Opuntia ficus indica</i> ).....	05
2. Caractéristiques morphologiques .....	07
2.1. L'appareil racinaire.....	07
2.2. Les raquettes.....	07
2.3. Les fruits.....	08
2.4. Les feuilles.....	09
2.5. Les fleurs.....	09
3. Culture.....	10
4. Importance de la culture du figuier de barbaria .....	11
4.1. Alimentation humaine.....	11
4.2. Usage cosmétique.....	11
4.3. Usage médicinal.....	12
4.4. Usage industriel .....	13
5. Travaux antérieurs .....	14
6. La valeur nutritive d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	15

**Chapitre II : Métabolites secondaire  
d'*Opuntia ficus indica***

1. Introduction .....	17
2. Les composés phénoliques.....	19
2.1. Les tanins.....	20
2.1.1. Les tanins hydrolysables.....	21
2.1.2. Les tanins condensés. ....	22
2.2. Les flavonoïdes.....	23
2.2.1. Structure.....	23
2.2.2. Biosynthèse des Flavonoïdes.....	24
2.2.3. Propriétés des flavonoïdes.....	24
2.2.4. Les anthocyanes.....	24
3. Les alcaloïdes.....	26

## Chapitre III : Stress oxydatif et les méthodes de détermination du pouvoir antioxydants

1. Introduction.....	28
2. Définition d'un stress oxydatif .....	29
3. Les radicaux libres.....	30
4. Les antioxydants.....	31
4.1.Systèmes enzymatiques (PIQUET et HEBUTERNE, 2007 ; SMYTHIES, 1998).....	32
4.2. Systèmes non enzymatiques.....	32
5. Méthodes de détection du pouvoir antioxydant.....	33
5.1. Méthodes indirectes basées sur le transfert de protons.....	33
5.1.1. ORAC ( <i>Oxygene Radical Absorbance Assay</i> ).....	33
5.1.2. TRAP ( <i>Total Radical-trapping Antioxydant Parameter</i> ).....	34
5.2. Méthodes indirectes basées sur le transfert d'électrons.....	34
5.2.1. FRAP ( <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> ).....	34
5.2.2. TEAC ( <i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i> ).....	34
5.2.3. DPPH ( <i>2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> ).....	35
5.2.4. Folin-Ciocalteu.....	35
5.3. Méthode de détection directe-Résonance paramagnétique électronique.....	35

## Chapitre IV : Matériel et méthodes

1. Préparation du matériel végétal.....	39
1.1. Cueillette des fleurs et leur conservation.....	39
2. Détermination du pourcentage d'humidité.....	40
3. Testes phytochimiques .....	41
3.1. Préparation des extraits.....	42
3.2. Les tests phytochimiques.....	43
4. Extractions sélectives.....	44
4.1. Extraction des tannins (Bruneton, 1999).....	44
4.2. Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Faucher, 1982) .....	45
4.3. Extraction des alcaloïdes (Bruneton, 1999).....	45
4.4. Extraction des anthocyanes (Longo et al., 2007).....	46
5. Dosage des composés phénoliques.....	47
5.1. Dosage des phénols totaux (Singleton et al., 1999).....	47
5.1.1. Dosage des tanins condensés (test de la vanilline avec H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) (Swain et Hillis, 1959).....	47
5.1.2. Dosage des tanins hydrolysables au chlorure ferrique (Mole et Waterman, 1987).....	48
5.2. Dosage des tannins totaux.....	49
5.3. Dosage des flavonoïdes (Djeridane <i>et al.</i> , 2006).....	50
6. Etude du pouvoir antioxydant d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	51
6.1. Mesure de l'activité antioxydant par la technique de DPPH.....	51

6.2. Mesure de l'activité antioxydant par la technique de Frap (Ferric reducing antioxidant power).....	53
---	----

## **Chapitre V : Résultat et discussion**

1. Détermination de la teneur en eau.....	55
2. Screening phytochimique.....	58
2.1. Les rendements en extraits secs.....	59
3. Dosage quantitatif des composés phénoliques.....	61
3.1 Dosage des phénols totaux.....	61
3.2 Dosage des flavonoïdes.....	61
3.3 Dosage des tanins totaux, hydrolysable et condensés.....	62
3.3.1 Dosage des tanins totaux.....	62
3.3.2 Dosage des tanins hydrolysables et des tanins condensés.....	62
4 Etude de l'activité antioxydante.....	63
4.1 Piégeage du radical libre DPPH· (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	63
4.1.1 Flavonoïdes (les trois fractions).....	63
4.1.2 Tanins.....	64
4.1.3 Anthocyanes.....	66
4.1.4 Polyphénols.....	66
4.2 Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	70
4.2.1 Flavonoïdes (les trois fractions).....	70
4.2.2 Anthocyanes.....	71
4.2.3 Tanins et Polyphénols.....	72
4.3 Conclusion de l'activité antioxydante.....	74
<b>Conclusion</b> .....	77
<b>Référence bibliographiques</b> .....	80
<b>Annexe</b> .....	87

## *Liste des abréviations*

- **AcEto** : acétate d'éthyle.
- **AlCl<sub>3</sub>** : Trichloride d'Aluminium.
- **BuOH** : n-Butanol.
- **C** : concentration.
- **CaO** : hydroxyde de calcium.
- **DO** : densité Optique.
- **Eq** : équivalent.
- **FeCl<sub>3</sub>** : trichlorure ferrique.
- **GAE** : gallique acide equivalent.
- **H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : acide phosphotungstique.
- **H<sub>3</sub>PM<sub>012</sub>O<sub>40</sub>** : acide phosphomolybdique.
- **MG** : matière grasse.
- **MgSO<sub>4</sub>** : Sulfate de magnésium.
- **min** : minute.
- **M<sub>08</sub>O<sub>23</sub>** : molybdène.
- **MF** : matière fraîche.
- **MS** : matière sèche.
- **N** : normalité.
- **Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium.
- **PEG** : polyéthylène glycol.
- **P.F**: Poids Frais.
- **pH** : potentiel d'hydrogène.
- **SM** : solution mère.
- **V** : volume.
- **W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : oxydes bleus de tungstène.
- **ε** : epsilon.
- **°C** : degré Celsius.
- **g** : gramme.
- **L** : litre.
- **M** : molaire.
- **mg** : milligramme.
- **ml** : millilitre.
- **Qx** : quintaux.
- **µg** : microgramme.
- **µl** : microlitre.
- **%** : pourcentage.

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Plante d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	05
<b>Figure 02</b> : <i>Opuntia ficus indica</i> .....	06
<b>Figure 03</b> : <i>Opuntia Vulgaris</i> .....	07
<b>Figure 04</b> : Raquette d' <i>Opuntia</i> .....	08
<b>Figure 05</b> : Figuier de barbarie .....	08
<b>Figure 06</b> : Fleurs d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	09
<b>Figure 07</b> : Les organes reproducteurs.....	09
<b>Figure 08</b> : Les différentes classes des composés phénoliques .....	19
<b>Figure 09</b> : Structure des tanins hydrolysable .....	22
<b>Figure 10</b> : Structure des tanins condensés.....	23
<b>Figure 11</b> : Structure de base des flavonoïdes .....	23
<b>Figure 12</b> : Biosynthèses des flavonoïdes illustrant la voie de l'acétyl CoA et de la phénylalanine.....	25
<b>Figure 13</b> : Balance radicaux libres / antioxydants.....	29
<b>Figure 14</b> : Carte géographiques de la région de Tlemcen et du site de récolte de la fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> dans la daire d'Ouchba.....	39
<b>Figure 15</b> : L'extraction à chaud sous reflux.....	43
<b>Figure 16</b> : Structure du DPPH.....	51
<b>Figure 17</b> : Réduction du Fer ferrique en fer ferreux.....	53
<b>Figure 18</b> : La teneur en eau et le taux de matière sèche d' <i>Opuntia ficus indica</i> de la région de Tlemcen.....	57
<b>Figure 19</b> : Rendement en extraits obtenus de la fleur d'O. f. I .....	60
<b>Figure 20</b> : Teneur des composés phénoïques de la fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	63
<b>Figure 21</b> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisés pour les fractions acétate d'éthyle, n-butanol et ether s'iethylique de la fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	65
<b>Figure 22</b> : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonctions des différentes concertations utilisés pour les tanins totaux de la fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	66
<b>Figure 23</b> : Pourcentages d'inhibition du radical Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonctions des différentes concertations utilisés pour les anthocyanes de la fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	66
<b>Figure 24</b> : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonctions des différentes concertations utilisés pour les polyphénols de la fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	67
<b>Figure 25</b> : Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices 50 des différents extraits en mg / ml.....	69
<b>Figure 26</b> : Pouvoir réducteur des trois fractions flavoniques par la méthode de FRAP ...	71
<b>Figure 27</b> : Pouvoir réducteur des anthocyanes par la méthode de FRAP .....	71
<b>Figure 28</b> : Pouvoir réducteur des tanins et des polyphénols par la méthode de FRAP ...	72
<b>Figure 29</b> : Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50 % du fer des différents extraits de la fleur en mg/ml.....	73

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : les différents travaux sur le Figuier de Barbarie.....	14
<b>Tableau 02</b> : les valeurs nutritionnelles dans 100g du poids net de la plante.....	15
<b>Tableau 03</b> : Activités biologiques des composés polyphénoliques.....	20
<b>Tableaux 04</b> : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> .....	58
<b>Tableau 05</b> : Les rendements des extraits obtenus de la fleur du figuier de barbarie.....	59
<b>Tableau 06</b> : Valeurs des IC <sub>50</sub> trouvés pour les extraits de la fleur de la plante.....	68



# ***Introduction Générale***

### Introduction générale

L'univers végétal regorge de plantes insolites et ne cesse de nous révéler perpétuellement de nouvelles molécules qui jouent un rôle crucial dans notre vie quotidienne. Depuis longtemps, l'homme a toujours compté sur les plantes que ce soit pour se nourrir ou pour se soigner, puisqu'elles se présentent après exploration comme remèdes naturels ou sources alimentaires bien tolérés par l'organisme.

Parmi les végétaux délaissés mais qui intriguent par leurs éventuelles propriétés, l'*Opuntia ficus indica* communément appelé le figuier de barbarie.

Cette plante succulente s'est bien adaptée, pour une cactacée originaire d'Amérique centrale, au climat méditerranéen (**Sawaya et al., 1983**). Ainsi cette curiosité de la nature occupe une place de choix dans l'amélioration de l'économie et la sauvegarde de l'environnement dans les zones arides et semi-arides.

Le cactus connaît actuellement un regain d'intérêt dans plusieurs pays en raison de son rôle écologique et socio-économique, tels que la lutte contre la désertification, production de fruits et d'aliments pour bétail ainsi que différentes utilisations industrielles dans différents domaines (**Arba et al., 2002**).

A l'instar de nos voisins maghrébins, l'Algérie commence à s'intéresser de près au figuier de Barbarie. Ses fruits, autrefois vulgarisés à cause de son aspect épineux qui a poussé la recherche à ne pas s'intéresser à lui, connaissent aujourd'hui une grande importance du point de vue nutritionnel, médicinal et surtout cosmétique.

De plus, vu l'état actuel de l'alimentation, et la demande croissante d'aliments fonctionnels à l'échelle mondiale, tous les regards se tournent vers de nouvelles sources alimentaires afin de faire face à la malnutrition dans les pays industrialisés et surtout à la famine dans les pays du tiers monde. Alors pourquoi essayer de chercher plus loin tandis que des richesses incontestables se trouvent juste sous nos yeux.

Très adulé du côté cosmétologique comme l'arganier, il a été donc décortiqué par nos confrères et étudié en long et en large (les raquettes, les fleurs, le fruit y compris la pulpe, la peau et même les graines) ce qui n'est pas une idée anodine, car même les pépins de raisin ont fait l'objet d'études poussées qui leur ont revendiqué un pouvoir antioxydant puissant.

Les fleurs d'*Opuntia ficus indica* présentent un intérêt pour l'industrie cosmétique, en Sicile (Italie) en ont fait des huiles ou macérâtes pour la peau, également elles sont utilisées comme colorant naturel. En effet, deux pigments ont été identifiés dans les fleurs, un pigment jaune (indicaxanthine) et un pigment rouge-violet (5-o-glucose bétanidine). C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de recherche sur la composition chimique des fleurs du figuier de barbarie pour établir une valeur des métabolites secondaires et un pouvoir antioxydant potentiel de ces dernier.

La première partie est consacrée à une étude bibliographique qui a pour objet :

- La présentation de la plante étudiée.
- La mise en avant de la valeur nutritive et de l'importance des principaux constituants.
- La présentation des polyphénols et du pouvoir antioxydant.

La partie expérimentale pour étudier la composition phyto-chimique des fleurs du figuier de Barbarie, s'est articulée autour de deux axes de recherche qui feront l'objet du deuxième et troisième chapitre. Cette approche comprend les métabolites secondaires ainsi que le pouvoir antioxydant.

Une conclusion générale résumera l'ensemble de cette étude et présentera les perspectives qu'elle apporte concernant l'étude de la composition des fleurs du figuier de Barbarie.

# *Chapitre I*

## *Généralité sur le figuier de Barbarie*

## 1. Description du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*)

Le figuier de barbarie, une plante de la famille des *Cactaceae* (Kavirindi *et al*, 2010), originaire des régions arides et semi-arides du Mexique d'où son appellation « *nopal* », il a été importé pour la première fois en 1493 par Christophe Colomb en Espagne et au 19<sup>e</sup> siècle, le conte Adrian de Gasparin, un personnage français considérable par ses applications des sciences exactes à l'agriculture le fait introduire en Afrique du Nord, notamment en Algérie (Marc Schweizer, 1999).

*Opuntia ficus indica* appartient à la sous-famille des Opuntioideae, tribu des Opuntieae. Elle offre une résistance à la sécheresse, lutte contre l'érosion, et assure des apports nutritifs importants par ces fruits comestibles appelés figues de barbarie et ces raquettes produites (Kavirindi *et al.*, 2010).



**Figure 01** : Plante d'*Opuntia ficus indica*

Le figuier de Barbarie est une espèce de plantes arborescentes, permanentes et ligneuses, ces hauteurs peuvent atteindre de 1 à 5 mètres (Mulas M, Mulas G., 2004). Du point de vue physiologique, la caractéristique principale est le fait que ce cactus est de type CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*). Elle a la particularité de fixer le dioxyde de carbone « CO<sub>2</sub> » pendant la nuit et de fermer ses stomates pendant le jour. Une telle stratégie permet d'éviter les pertes en eau par évapo-transpiration qui peuvent avoir lieu le jour et d'optimiser ainsi l'utilisation d'eau (Youcef Habibi, 2004).

Sur le plan écologique, le figuier de Barbarie possède une grande adaptation aux conditions les plus hostiles (aridité du climat, salinité des sols, terrains de faible potentiel agricole). Son extension est limitée par les basses températures hivernal, son seuil de tolérance est de  $-10^{\circ}\text{C}$  (Youcef Habibi, 2004).

Selon la classification botanique, cette plante appartient :

Règne.....Plantae (plante vasculaire)

Embranchement.....Phanérogames

Sous-embranchement.....Angiospermes

Classe.....Dicotylédones

Sous-classe.....Dialypétales

Ordre.....Caryophyllacées

Famille.....Cactacée

Genre.....Opuntia

Genre espèce.....*Opuntia ficus-indica*

Certains descripteurs séparent les figuiers de Barbarie en deux espèces distinctes (Arba *et al.*, 2000) :

- *Opuntia ficus Indica* : Espèce très largement dispersée et très estimée pour son fruit ; port arborescent, grande fleur jaune vif et fruit blanchâtre, jaune ou rouge, pulpe non colorée de rouge, raquettes inermes ou rarement a un seul aiguillon, les articles sont amples et larges (Figure 02).



Figure 02 : *Opuntia Ficus indica* (Photo personnel prise dans la région de Oucheba Tlemcen)





**Figure 03 : *O. Vulgaris* (Photo personnel prise dans la région de Bouhlou –Tlemcen)**

- *Opuntia Vulgaris* : A port étalé, beaucoup plus rustique, fleurs jaune soufre et satinées, fruit rougeâtres ou violacés, presque lisses, raquettes garnies de soies courtes et nombreuses parfois surmontées d'une épine solitaire, fort et allongée, les articles sont de petites tailles (Figure 03) (Chikh-Bled Nesrine, 2011).

Il existe plusieurs variétés qui ne diffèrent les unes des autres que par la forme des raquettes, la coloration de leurs fruits (rouge vif, rougeâtre, jaune citron ou jaune soufre) ou, la présence ou non d'aiguillons ou épines acérées, ou de graines dans les fruits. Ces cultivars sont essentiellement mexicains. Les variétés inermes sont mangées par le bétail et constituent une ressource précieuse pour les pays chauds contre aux variétés épineuses (ou aspermes) servent à faire des haies vives (Chikh-Bled Nesrine, 2011).

## 2. Caractéristiques morphologiques

C'est une plante xérophytique, capable d'emmagasiner une grande quantité d'eau.

### 2.1. L'appareil racinaire

L'appareil racinaire est superficiel, se concentrant dans les 30 premiers centimètres du sol, mais en revanche très étendu. Les racines des *Opuntia* sont caractérisées par une grande capacité d'absorption d'eau qui augmente parallèlement avec l'élévation des températures du sol (Sutton *et al.*, 1981).

### 2.2. Les raquettes

Les raquettes d'*Opuntia* est formée d'articles, ovales et charnus, de couleur vert mat, dont la surface est parsemée d'aréoles sur les qu'elles naissent les feuilles. Protégées par des poils barbelés appelé glochides et armés de redoutables épines qui sont les sétules (Figure 04) (Marc Schweizer, 1999)



**Figure 04 : Raquette d'*Opuntia***

**(Photo personnel prise dans les régions de Tlemcen )**

Les cladodes sont de forme aplaties, de 30 à 40 cm de long sur 15 à 25 cm de large et de 1.5 à 3 cm d'épaisseur. Unis les uns aux autres, ils tendent à former des branches. Ceux de bas se lignifient pour former au-delà de la quatrième année de croissance véritable tronc. Les cladodes ont une grande capacité d'emmagasiner l'eau surtout au niveau des tissus parenchymateux qui peuvent accumuler à eux seuls 82 % de l'eau retenue par la plante. Ils assurent aussi la fonction chlorophyllienne à la place des feuilles, et sont recouvertes d'une cuticule céroïde (la cutine), qui limite la transpiration et les protège contre les prédateurs (Pinkava DJ, Miller O., 2004).

### 2.3. Les fruits

La fructification a lieu en juillet-août. Le fruit, c'est le nom de l'ovaire lorsque les ovules ont été fécondés (Michel Derouet, 2010). C'est une baie charnue, ovoïde, ou piriforme pourvue d'épine, Il est généralement verdâtre ou jaune à maturité, sa pulpe est toujours juteuse, de couleur jaune-orange ou pourpre parsemée de nombreuses petites graines ; de l'ordre de 300 pour un fruit de 160g. (Youcef Habibi, 2004). Des analyses ont montré que la composition des graines contenait 28 à 30 % de lipides et de 20 à 22 % de protéines, en plus les glucides et l'eau contenus dans l'enveloppe charnue de son fruit (Ortega-Nieblas, 2001).



**Figure 05 : Fiquier de Barbarie  
(San Fransisco Botanical Garden )**



## 2.4. Les feuilles

Les feuilles sont peu développées, de forme conique et ont un caractère éphémère, ont seulement quelques millimètres de long. Elles apparaissent sur les cladodes jeunes et par la suite elles sont avortées (Mulas M, Mulas G., 2004).

## 2.5. Les fleurs

La floraison a lieu au printemps et dure 3 à 5 semaines. Les fleurs se différencient en général sur des cladodes âgés d'un an, le plus souvent sur les aréoles situées au sommet du cladode ou sur la face la plus exposée au soleil (Figure 06). Une seule fleur apparaît dans chaque aréole. Les jeunes fleurs portent des feuilles éphémères caractéristiques de l'espèce. Un cladode fertile peut porter jusqu'à une trentaine de fleurs, mais ce nombre varie selon la position du cladode, son exposition, et aussi selon des facteurs physiologiques (nutrition) (Michel Derouet, 2010).



Figure 06 : Fleur d'*Opuntia ficus indica* (San Francisco Botanical Garden)

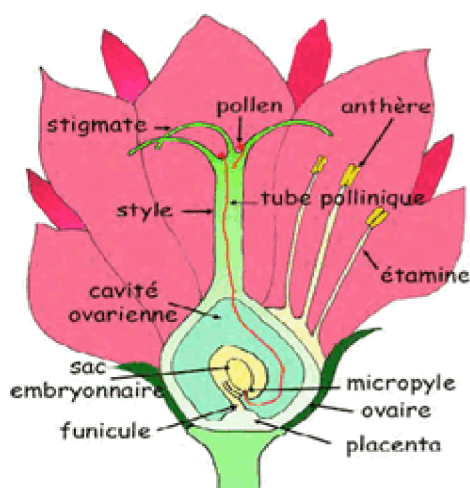


Figure 07 : Les organes reproducteurs ( Dessin Michael Derouet)

Une fois les fleurs produites, sont hermaphrodite. C'est à dire qu'elle réunit l'organe mâle (les étamines très nombreuses et qui portent le pollen) et l'organe femelle (le pistil surmonté par ses stigmates qui captent le pollen ainsi que le carpelle qui contient les ovules). Les sépales sont peu apparents contre aux pétales bien visibles, sont de couleur jaune orange. L'ovaire est infère et uniloculaire (Figure 07) (Michel Derouet, 2010).

### **3. Culture**

Le figuier de Barbarie est bien adapté aux climats chauds et secs, voir même les désertiques. Il supporte les gelées de quelques degrés et vient dans tous les sols à condition qu'ils ne soient pas humides. Très rependu dans les contrées tropicales, il ne végète bien qu'il subit l'action du soleil et qu'il est planté dans des terres très perméables, sableuses ou caillouteuses (**Nerd et al., 1991**).

Il est multiplié par bouturage de raquettes qui doivent avoir deux ans de végétation. Aussitôt que les raquettes sont détachées, elles sont abandonnées pendant 3 à 4 jours pour que l'air et le soleil cicatrisent leurs plaies et les empêchent de pourrir une fois plantés. La plantation des boutures, verticalement dans des tranchées enrichies en matière organique, s'effectue au printemps ou à l'automne. Les plants sont mis en place 6 mois après dans des sillons espacés de 3 à 4 m. Un buttage des jeunes pousses favorisent l'enracinement (**Poupon, 1975**).

La fructification commence dès la troisième année et devient très abondante, vers la septième année. Bien entretenue, une plantation est de durée presque indéfinie (**Sutton et al., 1981**).

La culture est simple et facile. Il suffit de maintenir la terre propre et meuble. Il est utile d'agir avec précaution lors des binages car les cactiers étendent leurs racines à fleur de terre. Annuellement, on enlève les raquettes qui sont mortes où altérées ainsi que les rejets de la base, facilitant ainsi l'aération des plantes. Pour la fructification, on favorisera les raquettes d'un an sur les quelles se situe la majorité de la floraison (**Nefzaoui et al., 1995**).

Au bout de 20 ans on peut pratiquer une taille complète de renouvellement. Bien que la plante soit peu exigeante, une fumure organique améliore la croissance et accroît le calibre des fruits (**Nefzaoui et al., 1995**).

## 4. Importance de la culture du Fiquier de Barbarie

### 4.1. Alimentation humaine

- Le figuier de Barbarie présente à lui seul un aliment complet (**Marc Schweizer, 1999**).
- Production de fruits (figue de Barbarie). Ils sont gorgés de vitamine C (0.04% du jus) (**Maataoui et al., 2005**). Pour débarrasser le fruit des glochides en les frottant avec un balai, ou une brosse, à sec ou dans l'eau. Le fruit peut être pelé sans contact avec les doigts.
- Produits dérivés : des huiles ou macérâtes très nourrissants à base de fleurs ou de fruits pour la peau, en Sicile (Italie), on en fait une liqueur, le Ficoli.
- Production de légumes (consommation des jeunes raquettes, les napolitos, au Mexique et au Maroc) : plein de bonnes choses, comme la vitamine C, le cuivre, le magnésium et le fer (**Hadj Sadok et al., 2008**).
- Colorants alimentaires naturels : en effet 2 pigments ont été identifiés dans les fleurs du figuier de Barbarie : un pigment jaune l'indicaxanthine (**Piatteli et al., 1964**) et un autre rouge-violet la bétanine (5-O-glucose bétanidine). Le jus obtenu à partir du fruit contient de 0.22 à 0.25% d'indicaxanthine et de bétanine 0.027% (fruit jaune orange) à 0.3% (fruit violacé) (**Stintzing et al., 2002**).

### 4.2. Usage cosmétique

- La plante aurait de nombreuses propriétés cicatrisantes et anti-âges. Elle est utilisée en crème de jour, après-soleil, antirides, anti-vergetures (**El Mannoubi et al., 2008**). En effet, l'huile de Figue de Barbarie est riche en vitamines et minéraux, ainsi qu'en actifs réputés pour leurs propriétés anti-oxydantes, agissant ainsi contre le vieillissement cutané. Les pouvoirs de cette huile dépasseraient ceux de l'huile d'argan. Hydratante, nourrissante et adoucissante, l'huile de Figues de Barbarie possède, entre autres, 65% d'acides gras polyinsaturés (nourrissants) - contre 33% pour l'argan, ainsi qu'un taux de vitamine E (anti-oxydante) supérieur à 100mg/100g - contre 65mg pour l'argan. (**Barbagallo et Sapanà., 1999**).

### 4.3. Usage médicinal

- **Hémostatique**, le *pectate calcomagnésien* qu'on extrait des tiges accélère nettement le temps de coagulation du sang et abrège les temps de saignement. Le Nopal semble agir efficacement à la fois sur les graisses et sur les sucres. La racine d'*O. Ficus Indica* est également considéré comme un excellent diurétique. Frais, le Nopal contient près de 90 % à 93 % de son poids en eau. Déshydraté, 15% de son poids est composé de fibres, en plus d'une quantité élevée de pectine et une grande variété de minéraux et de vitamines, notamment B et C. **(Marc Schweizer, 1999)**
- **Antidiabétique**, des études scientifiques démontrent qu'absorbé avant le repas, le Nopal est un antidiabétique efficace dans des cas d'hyperlipidémie (ou de diabète sucré) **(Marc Schweizer, 1999)**.
- **Obésité**, pris à jeun, le Nopal, très riche en fibres, se révèle un coupe-faim naturel. Il rassasie le boulimique qui mangera naturellement moins, ce qui l'aide à diminuer son poids sans souffrir. Les protéines végétales dont le Nopal est abondamment pourvu aident le corps à éliminer l'excès aqueux de certains tissus cellulaires, diminuant ainsi la rétention d'eau, dont la cellulite représente l'une des conséquences les plus fâcheuses. De par sa teneur élevée en fibres et en gommes, le Nopal est réputé pour son action bénéfique d'interception des graisses dans l'estomac et dans l'intestin, abaissant ainsi les niveaux de cholestérol et de lipides (graisses) dans le sang à leurs proportions normales. Le Nopal évite ainsi l'accumulation exagérée des graisses dans le sang des personnes sujettes à risques en améliorant la micro-circulation artérielle et veineuse. Il contribue à la prévention des problèmes cardiaques en régulant la tension. D'autres recherches sur la niacine (vitamine du groupe B3), présente dans le Nopal ont démontré qu'elle a pour effet de transformer le mauvais cholestérol (LDL) en bon cholestérol (HDL) **(Marc Schweizer, 1999)**.
- **Artériosclérose (durcissement des artères)**, les acides aminés et les fibres, en particulier le principe antioxydant des vitamines A (bêta-carotène) et C que contient le Nopal ont pour effet de diminuer le risque de détérioration des parois artérielles et la formation de plaquettes graisseuses **(Marc Schweizer, 1999)**.

- **Anxiolytique**, le Nopal est un tranquillisant naturel, apportant calme et sérénité à un organisme stressé. Des chercheurs ont suggéré que ce serait à la berbérine et à un autre alcaloïde encore indéterminé dont on a découvert des traces dans la plante que l'on devrait cette action bienfaisante (**Marc Schweizer, 1999**).
- Le fruit est un puissant anti diarrhéique (**Chikh-Bled Nesrine, 2011**).

#### **4.4. Usage industriel**

- Colorants naturels extraits des fruits (**Maataoui et al, 2005**).
- Production d'un colorant rouge par l'élevage de cochenille : durant des siècles, les nopaleraies du Mexique fournirent les pigments des plus beaux rouges, recherchés à prix d'or par les teinturiers de l'Ancien et du Nouveau-Monde. En fait, ces belles teintures écarlates proviennent de la cochenille femelle, insecte prédateur de l'*Opuntia*. (**Marc Schweizer, 1999**).
- Production de mucilages (notamment pour les adhésifs) (**Carmen Saenz, 2006**).

## 5. Travaux antérieurs

Les différents travaux antérieurs sont représentés dans le tableau 01

**Tableau 01** : Les différents travaux sur le Fiquier de Barbarie.

	Travaux	Auteurs
<b>Graines</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Isolement des hémicellulose du résidu des pectines des parois cellulaires de l'endosperme des graines d'<i>Opuntia Ficus Indica</i> par des extractions alcalines.</li> <li>-Purification et caractérisation de deux xylèmes par analyse des sucres et par méthylation.</li> </ul>	<b>-Habibi et al., 2005</b>
<b>Fruits</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Activité antioxydant et anti radicalaire de jus de fruit.</li> <li>-Nouveau aliments pour les ruminants.</li> <li>-Capacité a diminué le cholestérol LDL et les triglycérides.</li> </ul>	<b>-Maataoui et al., 2005</b>  <b>-Abara et al., 2009</b>  <b>-AFMO, 2004</b>
<b>Huile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Riche en vitamines et minéraux, ainsi qu'en actifs réputés pour leurs propriétés anti-oxydantes, agissant ainsi contre le vieillissement cutané.</li> </ul>	<b>-El Mannoubi et al., 2008</b>
<b>Raquettes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Valorisation alimentaire</li> <li>-Lutte contre la désertification</li> <li>-La poudre de la raquette du Fiquier de Barbarie permettrait, en entrant en contact avec les lipides contenus dans l'estomac, de ralentir l'absorption de ces dernières par l'organisme</li> </ul>	<b>-Hadj sadok et al., 2008</b> <b>-Mulass M. Mulas G, 2004</b> <b>-Lefrancois et al., 2007</b>

## 6. La valeur nutritive d'*Opuntia ficus indica*

La valeur nutritive des Nopals est similaire à de nombreux légumes à feuilles telles la laitue ou les épinards. Ils sont considérés comme une source importante en vitamines et en minéraux, principalement le calcium et le fer (Hadj Sadok *et al.*, 2008).

La valeur nutritive de l'*Opuntia* varie en fonction de l'espèce et de la variété considérée, elle est influencée par l'âge des raquettes, par l'évolution thermo pluviométrique au cours de l'année et par de nombreux facteurs agronomiques comme le type de sol et les conditions de croissance et de développement de la plante (Mulas M. Mulas G., 2000).

L'analyse des valeurs nutritives sont résumée dans les tableaux 02 et 03, (Décembre 2002) laboratoires nationaux de santé publique. UANL Faculté de sciences Biologiques, San-Francisco (USA).

Tableau 02 : les valeurs nutritionnelles dans 100g du poids net de la plante.

Concept	Contenu
Energie (Kcal)	78.00
Protéines (g)	27.00
Acides Gras (g)	0.3
Glucides (g)	5.6
Calcium (mg)	93.00
Fer (mg)	1.6
Thiamine (mg)	0.03
Riboflavine (mg)	0.06
Niacine (mg)	0.03
Acide ascorbique (mg)	8.00

# ***Chapitre II***

***Les métabolites secondaires  
(d'*Opuntia ficus Indica*)***



## 1. Introduction

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments.

Aujourd'hui encore, une majorité de la population mondiale se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire (**Abid L, 2009**).

Les végétaux, permette de disposer d'un éventail considérable de composants alimentaires à savoir : les constituants énergiques (protéines, lipides, glucides) et les constituants non énergiques (fibres alimentaires, minéraux, micronutriments) (**Croteau et al., 2000**). Chez les végétaux, les processus qui permettent de synthétiser les composés organiques sont traditionnellement regroupés en métabolisme primaire et secondaire. Les métabolites primaires tels que les nucléotides, les lipides acyles, les acides aminés et les acides organiques jouent des rôles spécifiques et indispensables, et ils sont retrouvés dans la quasi-totalité des cellules vivantes végétales et animales (**Salunkhe, 1990**).

A coté des métabolites primaires, les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires à structure chimique souvent complexe dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente, mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**). Cependant, ces métabolites à savoir notamment les composés phénoliques et les alcaloïdes ont historiquement reçu peu d'attention de la plupart des biologistes. Par contre, les chimistes se sont bien intéressés à ces nouvelles molécules phytochimiques et ont largement étudiés leurs propriétés chimiques depuis la seconde moitié du XIX<sup>e</sup> siècle (**Croteau et al., 2000**). De nombreux auteurs ont découvert récemment qu'un bon nombre de ces molécules ont un rôle important chez les plantes et notamment pour l'homme :

- Elles interviennent dans la structure des plantes.
- Elles peuvent se comporter comme des réducteurs de la digestibilité.
- Elles inhibent les attaques des microorganismes (antimicrobiennes).
- Elles participent à la prévention des cancers et des maladies cardiovasculaires (anti oxydantes) (**Rémésy et al., 1996**).

L'intérêt pour ces produits naturels n'a pas été purement académique mais plutôt inspiré du fait de leurs nombreuses utilisations comme colorants, polymères, colles, huiles, cires, arômes et drogues. La connaissance des propriétés biologiques de ces métabolites a permis de faire une mise au point dans ce domaine, surtout dans la recherche de nouvelles drogues, antibiotiques, insecticides et herbicides. Cette appréciation croissante des effets biologiques hautement diversifiés de ces produits naturels à permis une réévaluation des rôles joués par ces composés chez les végétaux, surtout dans le contexte des interactions écologiques, comme la protection contre les agressions externes (herbivores et microorganismes), l'attraction pour la pollinisation et la dispersion des graines et aussi comme agents allélopatiques (influence de la compétition entre les espèces végétales) (Croteau *et al.*, 2000).

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006). On distingue trois classes principales :

- Les composés phénoliques ;
- Les alcaloïdes ;
- Les isoprénoïdes (Terpénoïdes).

## 2. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Lebham, 2005). Ce sont notamment des pigments, des arômes, des tannins astringents, voire des composés sans couleur, sans odeur et sans saveur (Scalbert et Williamson., 2000). Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes des plantes (Figure 08). Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (Lugasi et al., 2003).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Beta et al., 2005). L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 1993).

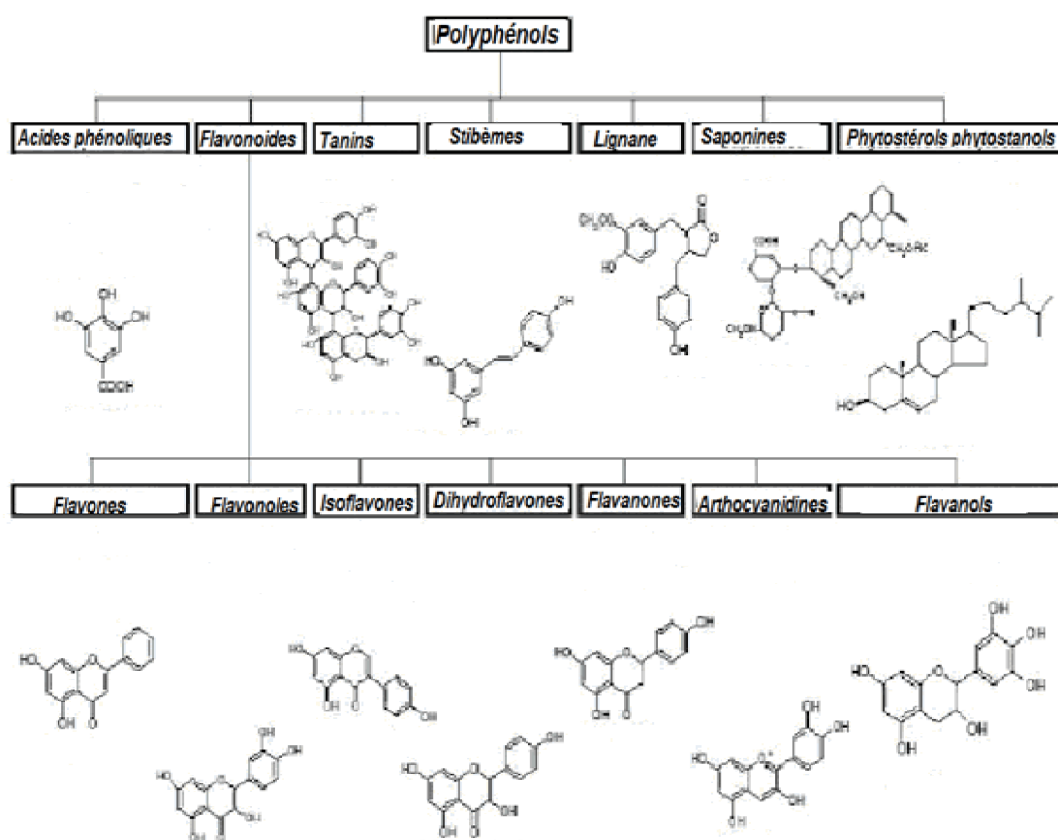


Figure 08 : Les différentes classes des composés phénoliques (Ahmed Bessas. 2008).

Les fonctions des polyphénols au sein des plantes et de leur environnement sont multiples et pas toujours bien connues, cependant l'une de leur fonction principale est de protéger la plante contre les herbivores, les pathogènes comme les champignons de pourriture ainsi que la limitation des dommages dus aux rayonnements UV (**Lebham, 2005**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. (**Beta et al, 2005**). Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le (**Tableau 03**).

**Tableau 03** : Activités biologiques des composés polyphénoliques (**Bahorun, 1997**)

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiqes	Antioxydantes

### 2.1. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur

degré d'oxydation Ils sont de saveur astringente, ayant la propriété de tanner la peau (Hemingway, 1992).

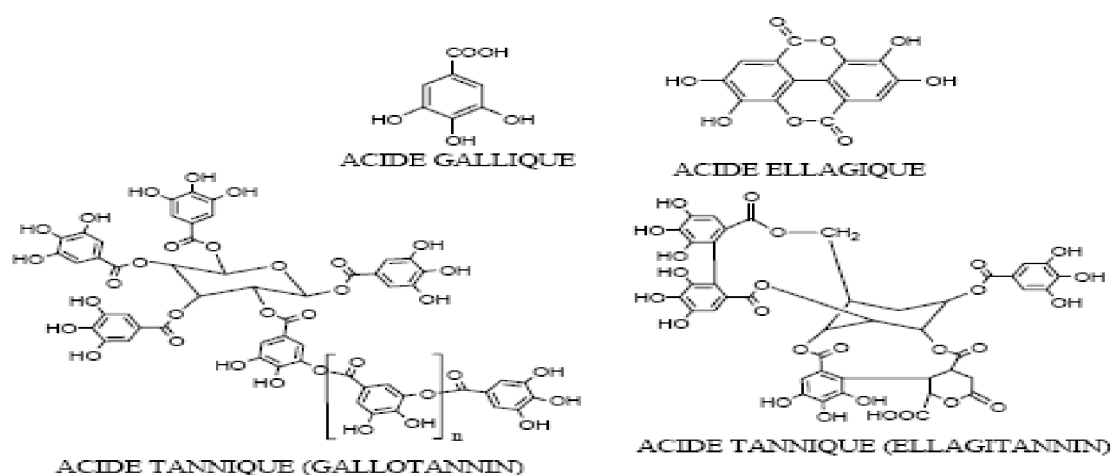
On distingue deux groupes de tanins différents par leur origine biogénétique :

### **2.1.1. Les tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides (**Figure 09**) (**Ribereau, 1968**). Ce groupe de tanins est caractéristique des Dicotylédones ; on le rencontre notamment chez les rosidaes dans tous les organes : racines, tiges, feuilles ou fruits avant la maturité. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions collodales (**Guignard, 1996**).

#### ➤ **Structure**

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central - le glucose - et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol (**Guignard, 1996**). Ils sont à leur tour divisés en tanins galliques et tanins ellagiques (**Abid L, 2009**).



**Figure 09 :** Structures des tanins hydrolysables (Salunkhe, 1990).

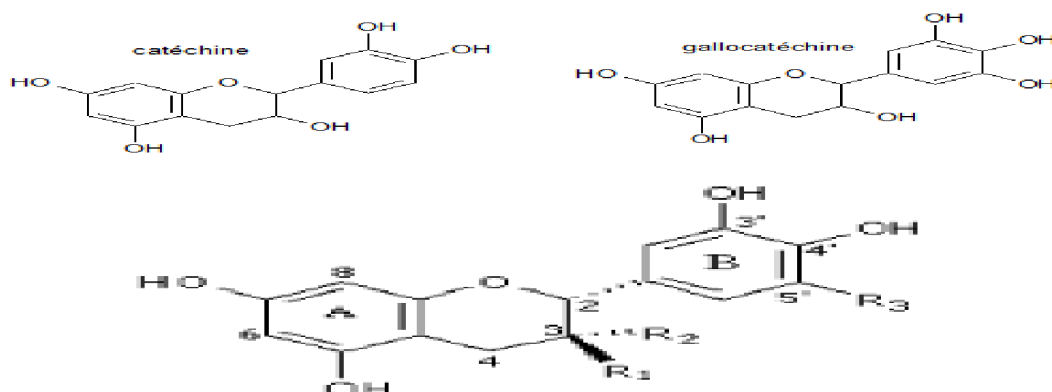
### 2.1.2. Les tanins condensés (flavan-3-ols)

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine (fruits, légume, thé, dattes, ...).

Il a été rapporté par Haslam (1998) que les tanins jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits (Haslam, 1998). Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (Porter *et al.*, 1986). Ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides minéraux dilués mais forment à l'ébullition des composés insolubles appelés phlobaphènes ou rouge de tanins (Guignard, 1996).

#### ➤ Structure

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992). Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétriques C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> et par le niveau d'hydroxylation du noyau B. On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées) (Figure 10) (Guignard, 1996).



**Figure 10** : Structure des tanins condensés (Waghorn et McNabb, 2003).

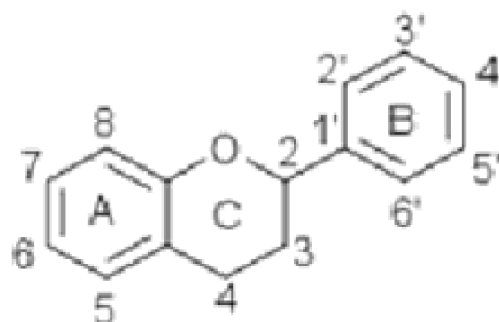
Les tanins ont des propriétés biologiques remarquables. Ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou brûlure. De plus, ils ont un effet antiseptique. En outre, ils jouent le rôle d'inhibiteurs enzymatiques (Abid L, 2009).

## 2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances naturelles issues des plantes (Bruneton, 1999). Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes) (Marfak, 2003). On les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes (Guigniard, 1996).

### 2.2.1 Structure

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en  $C_6$  (A et B), reliés par une chaîne en  $C_3$  (Figure 11) (Bruneton, 1999).



**Figure e 11**: structure de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

### **2.2.2. Biosynthèse des Flavonoïdes**

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-Coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA (**Figure 12**).

Le p-coumaroyl-Coa et les 3 malonyls-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalconeisomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(s)-flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (**Helle et Forkmann. 1993**).

### **2.2.3. Propriétés des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs. Certains, sont plus spécifiques de certains tissus, comme par exemple les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles. Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Se sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuance jaunes et orangées).

De nos jours, les propriétés les flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques et anti-cancéreuses (**Middleton et Kardasnam, 1993**). La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (**Medic et al., 2004**).

### **2.2.4. Les anthocyanes**

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés . Ces molécules faisant partie de la Famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'oeil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou



bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplis d'eau. On trouve également les anthocynes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont du aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (Bassas et al, 2007).

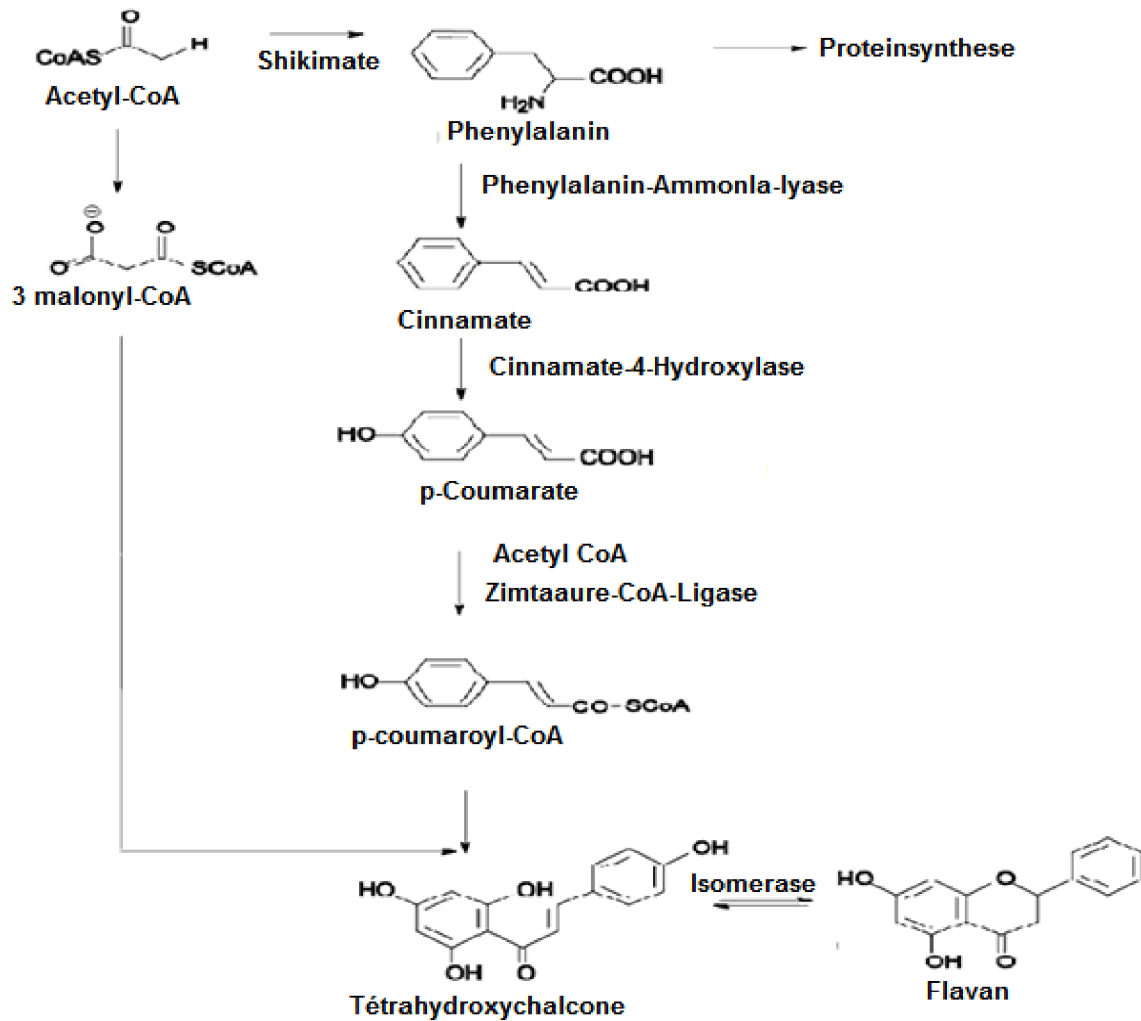


Figure 12 : Biosynthèse des flavonoïdes illustrant la voie de l'acétyle CoA et de la phénylalanine (Heller et Forkmann, 1993).

### 3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux (Figure 14). Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de : Réactif silicotungstique : réactif de Bertrand, Réactif Tétraiodomercurate de potassium : réactif de Valsler-Mayer, Iodobismuthate de potassium : réactif de Dragendorff (**Kansole, 2009**).

# ***Chapitre III***

## ***Stress Oxydatif***

## 1. Introduction

La nutrition – santé, c'est savoir s'alimenter pour fournir à l'organisme les nutriments dont il a besoin pour se développer et se maintenir en bonne santé. Une alimentation équilibrée, non carencée, permet en effet de diminuer sensiblement le risque de développer les nombreuses maladies de nos sociétés modernes : maladies cardiovasculaires, obésité, diabète, hypertension et autres (**Lennie et Dwyer, 2006**). Les nutriments sont les composants nutritionnels des aliments. Classiquement, on distingue différentes familles : les glucides, les protéines, les lipides, les vitamines, les oligoéléments et les minéraux. Les nutriments permettent la production d'énergie assurant les nombreuses fonctions vitales, le renouvellement des cellules, la croissance par oxydation. En effet, l'oxygène est un élément indispensable pour la production d'adénosine triphosphate (ATP) mitochondrial à partir des nutriments (**SPLF, 2003**).

La chaîne respiratoire mitochondriale joue un rôle capital dans la cellule en étant responsable de la transformation de l'oxygène en deux molécules d'eau. Cette réaction de réduction directe impliquant la présence de quatre électrons est rendue possible grâce à un système complexe de protéines et d'enzymes (cytochromes) localisés dans la membrane interne de la mitochondrie. D'une part, la mitochondrie fournira à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique seront générées lors de la réduction de l'oxygène. Par contre, le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en une espèce réactive de l'oxygène (ERO) particulièrement réactionnelle (**Koppenol, 2001**).

## 2. Définition d'un stress oxydatif

Le stress oxydatif est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Lorsque des espèces réactives oxygénées (ERO) commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense anti-oxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, la vitamine E et C, la bilirubine et des enzymes comme la catalase, le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, les peroxyrédoxines...ect (Delattre, 2005).

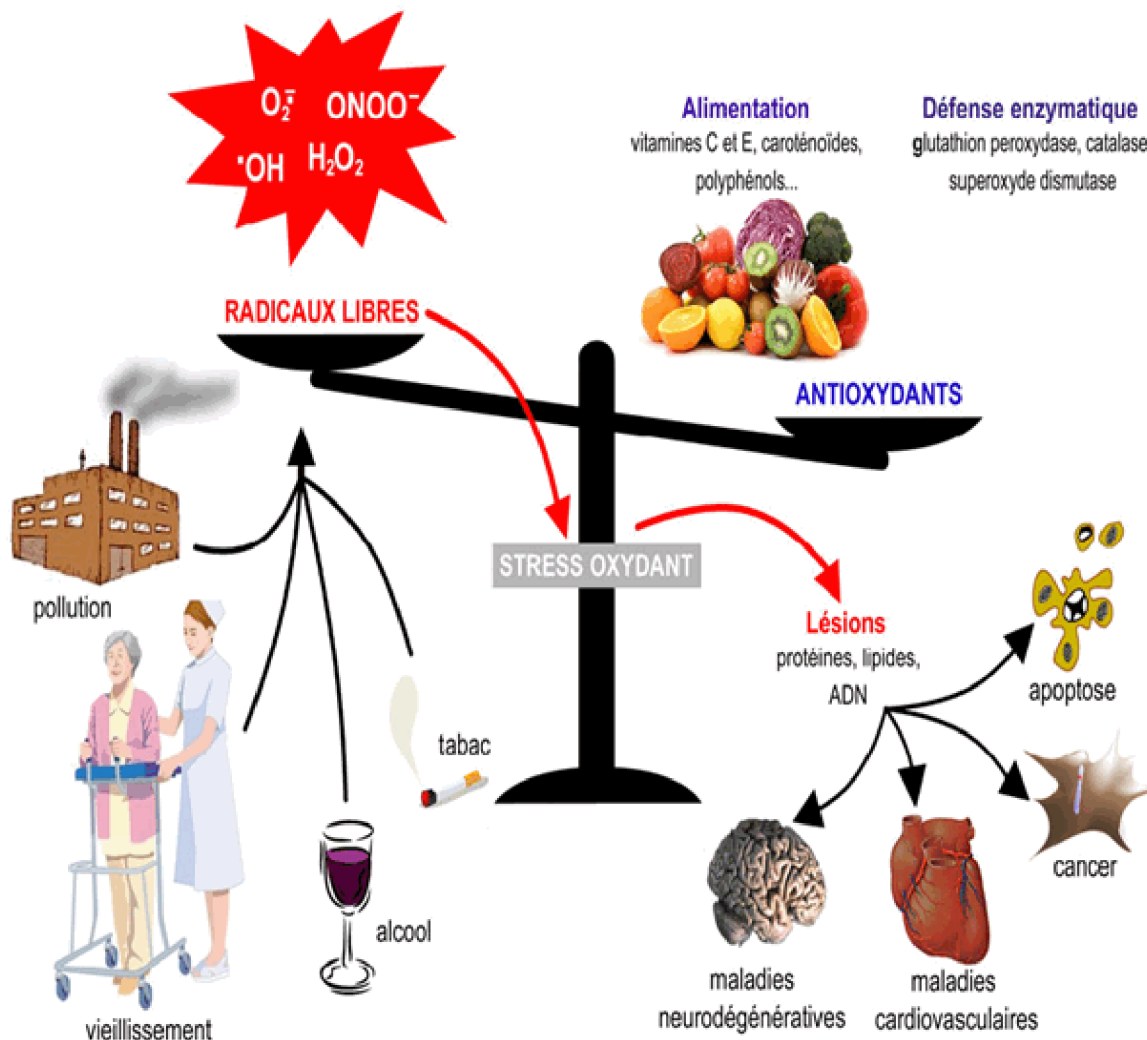


Figure 13 : Balance radicaux libres / antioxydants (@3).

### 3. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) contenant un électron non apparié sur leur couche externe. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Delattre, 1997). En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement court (de la nano-à la milliseconde) (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003). Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire les bactéries à l'intérieur des cellules immunitaires (macrophages, polynucléaires), d'inactiver les virus ou pour réguler des fonctions cellulaires létales comme l'apoptose (Favier, 2003). Les plus courants :

➤ Radicaux superoxydes  $O_2^{\cdot-}$

Ils sont produits pendant le métabolisme de l'énergie dans la cellule. Il agit sur deux plans : c'est l'agent principal dans l'action bactéricide des phagocytes (cellules capables d'englober des corps étrangers pour les détruire), mais il peut aussi être un médiateur nuisible dans l'inflammation et faire que les tissus normaux du corps soient endommagés.

➤ Radicaux hydroxyles  $HO^{\cdot}$

Les radicaux hydroxyles se forment selon plusieurs voies de réactions chimiques impliquant l'hydrogène dans le métabolisme cellulaire. Les radicaux hydroxyles sont connus pour être les radicaux libres les plus réactifs. Il se rencontre en particulier dans les alcools et les phénols et peut endommager pratiquement tous les types de macromolécules: les glucides, les acides nucléiques, les lipides et les acides aminés.

➤ Oxyde Nitrique  $NO$

L'oxyde nitrique est un radical libre gazeux soluble qui joue un rôle important dans la physiopathologie cellulaire. Il est la clé du transfert du message vasodilatateur à partir de l'endothélium (tissu formant le revêtement interne du cœur et des vaisseaux) aux cellules

vasculaires et est un élément constitutif dans la neurotransmission centrale et périphérique. C'est enfin un participant à la défense immunitaire. La modulation de la concentration cellulaire et extracellulaire de l'oxyde nitrique est donc critique. (@3)

Lorsque la production de radicaux libres est trop grande, devient dangereuse et cause des dommages irréversibles dans le corps. D'après les recherches scientifiques, les radicaux libres seraient impliqués dans l'apparition de nombreuses maladies telles: l'arthrite, les taches sur la peau, le cancer, l'asthme, la cataracte, les maladies cardiaques, les troubles articulaires, les maladies dégénératives telles que la sclérose en plaques et la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose, Ets. (@3)

#### **4. Les antioxydants**

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme.

Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie et le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé.

Les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaires ont été questionnés au cours des dernière années et la nécessité de les substituer par des antioxydants naturels, issus de plantes médicinales, est apparente.

Le maintien d'un niveau non cytotoxique des espèces oxygénées réactives est assuré par des systèmes d'antioxydants.

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (SHAHIDI, 1997).

#### 4.1. Systèmes enzymatiques (PIQUET et HEBUTERNE, 2007 ; SMYTHIES, 1998)

Il s'agit principalement de trois enzymes.

- ❖ **Le superoxyde dismutase (SOD)** : accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, Il existe plusieurs iso enzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD)].
- ❖ **La catalase (CAT)** : Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.
- ❖ **La glutathion peroxydase (GPx)** : La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH). **La glutathion réductase (GR)**, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur.

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de l'O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire.

#### 4.2. Systèmes non enzymatiques

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire). La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulier, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires.

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe<sup>2+</sup> /Fe<sup>3+</sup> ou Cu<sup>2+</sup>/Cu<sup>+</sup> permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (TRIVALLE, 2002).



D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. La vitamine piégeuse devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système. A titre d'exemple, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, elle-même régénérée par les ascorbates réductases. Des composés comme les alcaloïdes, les polyphénols et les phytates, huiles essentielles (BRUNETON, 1999). Flavonoïdes apportés également par l'alimentation, jouent un rôle similaire de piègeurs de radicaux libres.

## **5. Méthodes de détection du pouvoir antioxydant**

On distingue deux grandes catégories de méthodes de mesure du potentiel antioxydant : des méthodes indirectes, où l'action d'un antioxydant sur les radicaux libres est révélée par l'intermédiaire d'une sonde (souvent fluorescente) ; et des méthodes directes, où l'activité des radicaux libres est mesurée sans intermédiaire. Le test sera sélectionné en fonction de la nature de l'antioxydant. Il n'existe malheureusement pas de test universel permettant de mesurer le potentiel antioxydant sous toutes conditions possibles (Ives Desjardins *et al.*, 2008).

### **5.1. Méthodes indirectes basées sur le transfert de protons**

Ces méthodes font appel à une source de radicaux libres synthétiques, à des sondes moléculaires oxydables (UV ou fluorescente), et à une source d'antioxydants. Lors de la compétition, l'antioxydant entre en compétition avec la sonde moléculaire pour les radicaux libres et, de ce fait, inhibe son oxydation. Les méthodes les plus souvent utilisées (ORAC et TRAP) mesurent la capacité d'un antioxydant à piéger un radical libre en donnant un proton et sont donc représentatives des réactions d'oxydation en chaîne des lipides (Brand-Williams *et al.*, 1995).

#### **5.1.1. ORAC (Oxygene Radical Absorbance Assay)**

Le test ORAC mesure la capacité d'un antioxydant à prévenir l'oxydation d'un radical libre (radical peroxy), et reflète assez fidèlement les réactions retrouvées dans les systèmes biologiques. Dans le test ORAC de base, une source de radicaux peroxy réagit avec une sonde fluorescente pour former un produit de réaction non fluorescent quantifié à l'aide d'un

fluorimètre qui mesure la perte de fluorescence dans le temps. Le teste, qui se déroule sur une période d'au moins 30 minutes, compare l'intégrale de l'aire entre la courbe de perte de fluorescence d'un échantillon témoin et celle engendrée par l'ajout d'un antioxydant (**Brand-Williams et al., 1995**).

#### **5.1.2. TRAP (*Total Radical-trapping Antioxydant Parameter*)**

Cette méthode mesure la capacité d'un antioxydant à inhiber l'action des radicaux peroxydes générés par une sonde fluorescente le 2,2'-azobis (2-amidi-norpopane) dihydrochloride (AAPH). Elle mesure la durée de l'inhibition comparativement à celle du TROLOX, une molécule antioxydant possédant une structure similaire à celle de la vitamine E (**Brand-Williams et al., 1995**).

### **5.2. Méthodes indirectes basées sur le transfert d'électrons**

De manière générale, ces méthodes mesurent la capacité d'un antioxydant à transférer un électron pour réduire des radicaux libres (oxydant) qui agissent aussi comme sonde moléculaire. Le changement de couleur de la sonde est habituellement proportionnel à la concentration d'antioxydant. Les méthodes utilisant ce principe sont le FRAP, le TEAC, le DPPH et le Folin-Ciocalteu (**Rize-Evans et al., 1993**).

#### **5.2.1. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)**

Cette méthode d'évaluation du potentiel antioxydant repose sur une mesure colorimétrique du transfert d'électrons d'un d'antioxydant vers un accepteur d'électron, le 2, 4, 6-tripyridyl,5-triazine ferrique (TPTZ), une molécule, incolore lorsqu'oxydée, devient d'un bleu intense une fois réduite, ce qui permet de le quantifier par spectrophotométrie (**Benzie et al, 1996**).

#### **5.2.2. TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*)**

La méthode TEAC est également une mesure colorimétrique du transfert d'électrons d'un antioxydant vers un accepteur d'électrons le sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azabis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sul-phonique (ABTS<sup>•+</sup>). Cette activité est standardisée en la comparant à un antioxydant de référence, le TROLOX. Cette méthode se rapproche de celle du FRAP. Elle

s'effectue à pH neutre alors que le FRAP s'effectue à pH acide (PH=3.6) (Rize-Evans *et al.*, 1993).

### **5.2.3. DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

Cette méthode, semblable au TEAC, mesure la capacité réductrice d'un antioxydant en présence d'un radical libre, le DPPH<sup>•</sup>. Le DPPH<sup>•</sup> Est une molécule que l'on peut acheter dans le commerce et qui n'a pas à être produite avant le teste comme s'est le cas pour le TPTZ et l'ABTS<sup>•+</sup>. En présence d'un antioxydant, la réduction du DPPH s'accompagne de la diminution de la coloration qui peut être suivie par spectrométrie (Rize-Evans *et al.*, 1993).

### **5.2.4. Folin-Ciocalteu**

La méthode de Folin-Ciocalteu, habituellement employée pour mesurer les phénols totaux d'un échantillon, est en réalité une mesure de la capacité réductrice d'un échantillon, donc elle est représentative de son activité antioxydante. Il s'agit d'une réaction colorimétrique d'oxydation par un réactif à base d'un sel de molybdène et de tungstène (Rize-Evans *et al.*, 1993).

## **5.3. Méthode de détection directe-Résonance paramagnétique électronique**

La seule méthode directe pour mesurer les radicaux libres est la résonance paramagnétique électronique. Cette méthode utilise la propriété paramagnétique du radicale libre, ce qui signifie qu'elle décèle le magnétisme émis par l'électron célibataire du radicale libre. La résonance paramagnétique peut être utilisée pour mesurer le potentiel antioxydant d'un composé dans un milieu non biologique ou sur des échantillons plasmatiques ou tissulaires. Encore plus intéressante, elle permet également de mesurer le potentiel antioxydant plasmatique *in vivo* en injectant des piègeurs d'électrons célibataires. Ces molécules vont se lier avec une très forte affinité à certains types de radicaux libres pour donner un produit radicalaire stable qui peut ensuite être décelé par spectroscopie (Ives Desjardins *et al.*, 2008).

# ***Chapitre IV***

## ***Matériels et Méthodes***

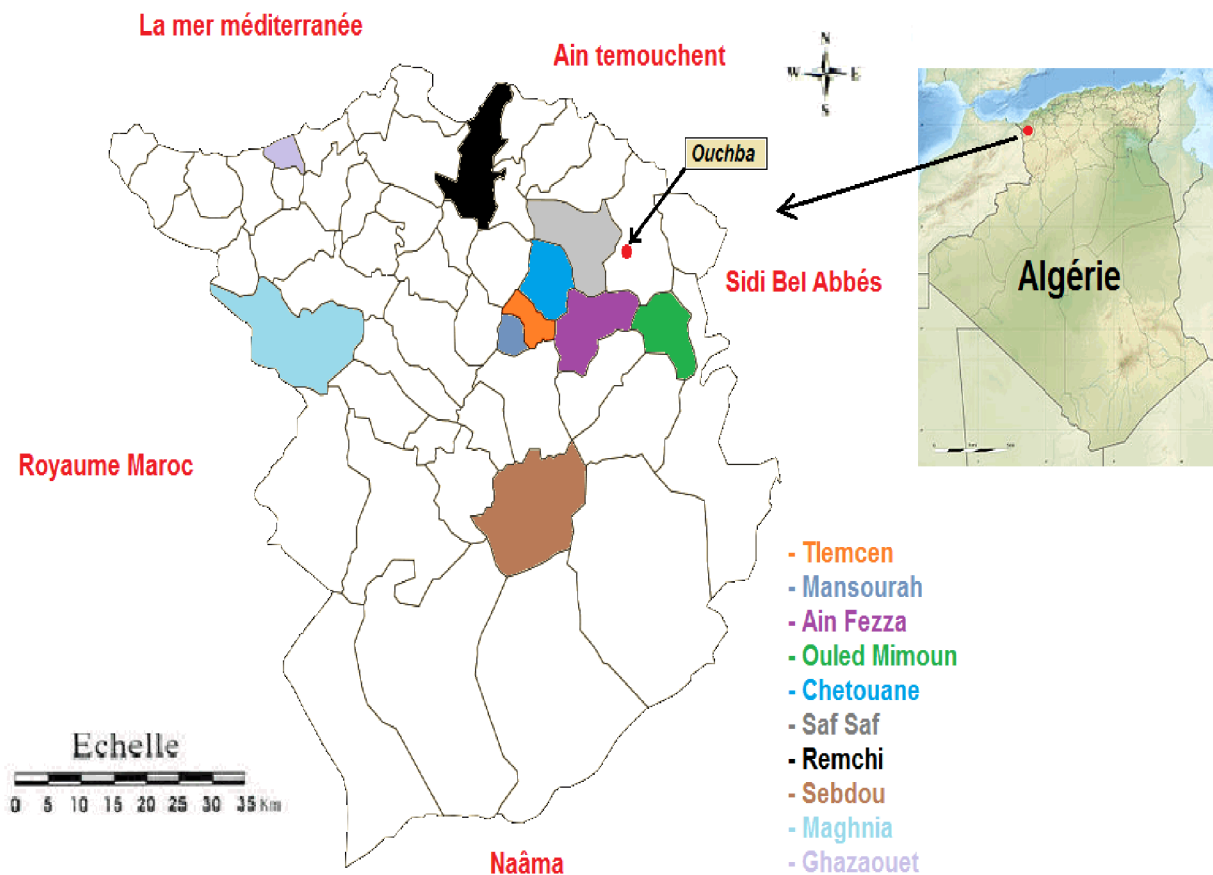
# *Matériels & Méthodes*



## 1. Préparation du matériel végétal

### 1.1. Cueillette des fleurs et leur conservation

Notre travail expérimental a porté sur les fleurs du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) de la région d'Ouchba, wilaya de Tlemcen (**Figure 14**). Il a été commencé par une cueillette des fleurs qui s'est effectuée au printemps 2012. A ce moment, la plante avait bien fleuri et en quantité suffisante pour la totalité des travaux réalisés. Elles portaient des couleurs nuancés du jaune claire vers le jaune soufre ou pratiquement orange. Les fleurs ont été cueillis soigneusement avec des gants, parce que les fruits qui les portes et surtout les cladodes sont très épineux.



**Figure 14** : Carte géographique de la région de Tlemcen et du site de récolte de la fleur d'*Opuntia ficus indica* dans la Daira d'Ouchba .

La conservation des fleurs a nécessité le passage par les étapes suivantes :

- Au niveau du laboratoire, nos fleurs ont été séparés du fruit avec délicatesse a l'aide d'une pince et d'un cuteur.
- Les pétales qui entoure la fleur ont été ensuite détaché, les étamines aussi a leur tour séparée du reste de la fleur, toujours a l'aide d'une pince.
- Les différents composés de la fleur ont été placées sur du papier cellophane pour sécher à température ambiante.
- Après séchage complet de tous les composés de la fleur, ces dernière ont été broyées a l'aide d'un mixeur.
- Enfin, elles ont été conservées dans un bocal en verre à l'abri de la lumière et dans un endroit sec pour des analyses ultérieures.

## **2. Détermination du pourcentage d'humidité**

### **❖ Principe**

La détermination du pourcentage d'humidité des fleurs a été réalisée par une méthode physique dite méthode par étuvage. Il a été déterminé par dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve maintenue à  $103 \pm 2 \text{ C}^\circ$  jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Elle est définie comme étant la perte de masse subie avant et après séchage dans des conditions bien déterminées, pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare placées dans un dessiccateur (**Audigie et al., 1980**).

### **❖ Mode opératoire :**

- ✓ Introduire dans chaque vase 2g de l'échantillon frais : c'est le poids  $P_1$
- ✓ Placer les vases dans une étuve réglée à  $105 \text{ C}^\circ$  pendant trois heures.
- ✓ Peser l'ensemble et répéter la même opération mais avec un temps réduit (une heure seulement).

La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2mg, si non l'opération est renouvelée jusqu'à poids constant.



**❖ Expression des résultats :**

Le pourcentage d'humidité (%) du matériel végétal est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = [(P_2 - P_3) / (P_2 - P_1)] \times 100$$

Dont :

$P_1$  : masse en g de la vase de tare.

$P_2$  : masse en g du (vase de tare+échantillon) avant séchage.

$P_3$  : masse en g du (vase de tare+échantillon) après séchage.

A partir de la teneur en humidité on peut déterminer le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{taux d'humidité (\%)}$$

### 3. Testes phytochimiques

Les testes phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques de la fleur essentiellement les composés phénoliques comme les tanins, les flavonoïdes et les anthocyanes et les composés azotés en particulier les alcaloïdes et les saponosides.

**❖ Principe**

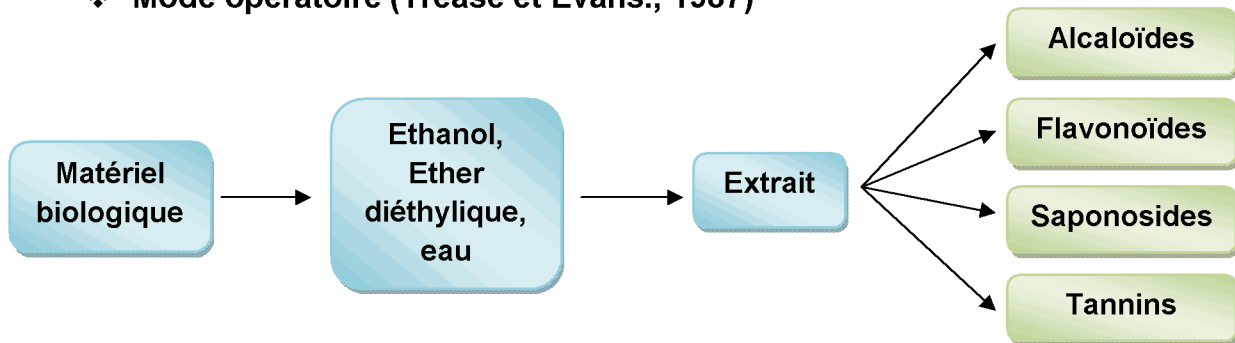
La mise en évidence s'effectue par des testes phytochimiques réalisés généralement sur les extraits déjà préparés par des épuisements à chaud ou par des macérations à froid.

Ils sont basés sur :

- ✓ Des essais de solubilité des constituants de la plante vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente (l'eau, l'éthanol, et l'éther diéthylique).

- ✓ En dernier, des testes phytochimiques se font par des réactions de coloration et de précipitation.

❖ **Mode opératoire (Trease et Evans., 1987)**



### 3.1. Préparation des extraits

➤ **Préparation de l'extrait par l'eau chaude**

L'extraction se fait sous reflux pendant 1h de 50g du matériel végétal séché et broyé en présence de 300ml d'eau distillée (**Figure 15**). Le mélange est filtré et stockés à 4 C° pour être soumis au testes ultérieures.

➤ **Préparation de l'extrait par l'éthanol**

Dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant, on met 50g du matériel végétal broyé et on ajoute 300ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant 1h ensuite filtré et stockés à 4 C° pour être soumis aux testes ultérieures.

➤ **Préparation de l'extrait par éther diéthylique**

La préparation de cet extrait se fait de la même manière que celle de l'extrait éthanol, et a la dernière étape on aura l'extrait éthérique qui sera stockés à 4 C° pour être soumis au testes ultérieures.

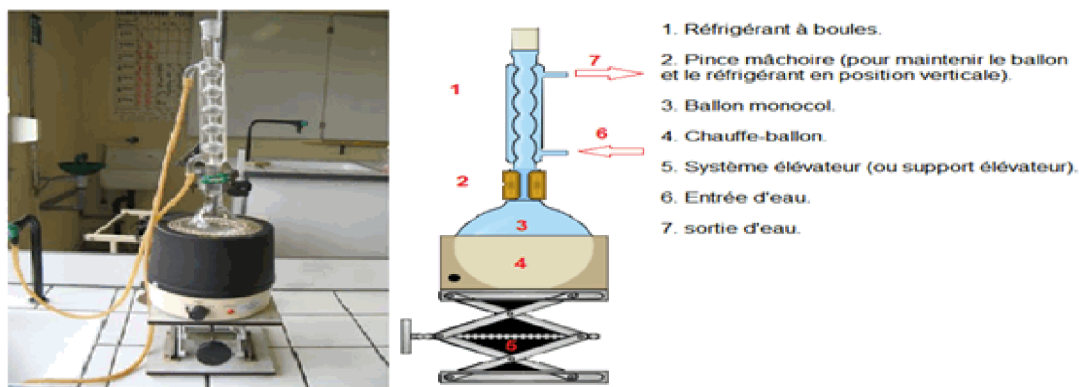


Figure 15 : L'extraction à chaud sous reflux

### 3.2. Les tests phytochimiques

Les extraits préparés ont fait l'objet de quelques tests phytochimiques.

#### ➤ Alcaloïdes

- 0.2ml d'extrait aqueux, éthanolique et éthérique.
- Ajouter 5ml HCL à 1% au résidu puis agiter et chauffer au bain marie pendant 15min.
- Filtrer le mélange puis diviser le filtrat en deux parties égales.
- Traiter la première partie avec trois gouttes de réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wagner (Voir annexe).

Le test n'est considéré positif que lorsqu'il y a apparition d'une turbidité ou d'une précipitation.

(+) : Le réactif produit une légère opacité ;

(++) : Le réactif produit une légère turbidité et non une floculation ;

(+++): Le réactif produit une floculation ou un précipité lourd.

#### ➤ Flavonoïdes

- ✓ Traiter 5ml de l'extrait aqueux avec 5ml de  $\text{NH}_3$  dilué et du  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en l'espace de 3min.

➤ **Tannins**

- ✓ Prendre 1ml de la solution alcoolique éthanolique et éthérique, ajouter 10ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 1%.

Un testes positif est révélé par l'apparition d'une couleur bleu noir caractéristique des tanins hydrolysables, ou d'une couleur brun verdâtre caractéristique des tanins condensés (Trease et Evans, 1987).

➤ **Saponosides**

Le test se fait par l'indice de mousse.

On ajoute 10ml d'eau distillée à 5ml de nos trois extraits (aqueux, éthanolique et éthérique). Ensuite on agite pendant 2min dans un agitateur, la présence des Saponosides est révélée par l'apparition d'une mousse dans les 15min qui suivent l'expérience (Trease et Evans, 1987).

## 4. Extractions sélectives

### 4.1. Extraction des tannins (Bruneton, 1999)

Une quantité de 10g de matériel végétal broyé en présence de 180 ml d'eau distillé et 100 ml d'acétone ; l'ensemble est porté à une macération à froid (4 C°) pendant 4 jours.

Filtrer et extraire la solution deux fois avec 50 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides.

Décantier et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique avec MgSO<sub>4</sub> ensuite faire évaporer le solvant à sec.

❖ **Expression des résultats**

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$R_t \% = ((P_2 - P_1) / m) \times 100$$

R<sub>t</sub> : Rendement %MS des tannins ;

P<sub>1</sub> : Poids du ballon vide avant extraction ;

$P_2$  : Poids du ballon après extraction (ballon+tannins) ;

$M$  : Masse en g de l'échantillon.

#### 4.2. Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Faucher, 1982)

Une quantité de 20g de matériel végétal dans 200 ml de méthanol bouillant en présence de 10g de  $\text{CaCO}_3$ . L'ébullition est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1 h. Après filtration, le dépôt est traité de nouveau pendant 1 h à l'ébullition dans la même quantité d'alcool.

Les deux solutions alcooliques sont réunies, et évaporées. Le résidu sirupeux est ensuite épuisé successivement par des décantations qui dure 4h avec les trois solvants suivant : l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Dans ce cas les trois extraits contiendront tous les composés flavonoïques.

##### ❖ Expression des résultats

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$R_t \% = ((P_2 - P_1) / m) \times 100$$

$R_t$  : Rendement %MS des flavonoïdes ;

$P_1$  : Poids du ballon vide avant extraction ;

$P_2$  : Poids du ballon après extraction (ballon+flavonoïdes) ;

$M$  : Masse en g de l'échantillon.

#### 4.3. Extraction des alcaloïdes (Bruneton, 1999)

On mélange 10g du matériel végétal avec 250 ml d'HCl à 2% et 110 ml d'acétate d'éthyle. L'ensemble est porté à une macération à froid ( $4\text{C}^\circ$ ) pendant 10h. Filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse acide avec  $\text{NH}_4\text{OH}$ . La phase aqueuse basique est ensuite extraite plusieurs fois avec l'acétate d'éthyle. L'opération est répétée deux fois avec l'acétate

d'éthyle, jusqu'à ce que la phase aqueuse qui ne contient plus d'alcaloïdes (ce qui peut se vérifier aisément par la négativité de réaction de Mayer effectuée sur la phase aqueuse).

Le solvant organique contenant les alcaloïdes est décanté, débarrassé des traces d'eau grâce à la déshydratation au  $MgSO_4$ . Ensuite évaporé le solvant et reste alors un résidu sec des alcaloïdes totaux.

#### ❖ Expression des résultats

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$R_t \% = ((P_2 - P_1) / m) \times 100$$

$R_t$  : Rendement %MS des alcaloïdes;

$P_1$  : Poids du ballon vide avant extraction ;

$P_2$  : Poids du ballon après extraction (ballon+ alcaloïdes) ;

$M$  : Masse en g de l'échantillon.

#### 4.4. Extraction des anthocyanes (Longo et al., 2007)

Une quantité de 2,5 g du matériel végétal séchée et broyée est extraite par 12,5 ml d'un mélange HCl / méthanol à 1 % pendant 20h à la température ambiante. Après filtration, le résidu est lavé par 12,5 ml de HCl / méthanol à 0,1%. Les filtrats obtenus sont combinés et évaporé à 30 C°, un résidu des anthocyanes sec est obtenu.

#### ❖ Expression des résultats

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$R_t \% = ((P_2 - P_1) / m) \times 100$$

$R_t$  : Rendement %MS des anthocyanes;

$P_1$  : Poids du ballon vide avant extraction ;

$P_2$  : Poids du ballon après extraction (ballon+ anthocyanes) ;

$M$  : Masse en g de l'échantillon.

## 5. Dosage des composés phénoliques

### 5.1. Dosage des phénols totaux (Singleton et al., 1999)

#### ❖ Principe

Ce dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). L'oxydation des phénols réduit ce réactif, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de phénols totaux présents dans l'extrait végétal.

#### ❖ Extraction

Une quantité de 2g du matériel végétal séchée et broyée est mise en présence d'un mélange acétone / eau (70/30 : V/V), l'ensemble est porté à une macération à froid (4C°) pendant 24h. Après filtration, la solution obtenue est évaporée. Un résidu sirupeux est récupéré sur les parois de l'ampoule par 3ml de méthanol.

#### ❖ Mode opératoire

- ✓ 5µl d'extrait sont ajoutés à 1.7 ml de l'eau distillé ;
- ✓ ensuite 300µl de réactif de folin dilué sont additionnés ;
- ✓ Après 3min, on ajoute 0.5 ml de  $NaCO_3$  (20%).

On laisse les tubes pendant 30min à l'obscurité, puis on détermine la densité optique à 760 nm par rapport au témoin.

#### ❖ Expression des résultats

La teneur en poly phénols totaux, est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage (Voir Annexe) et exprimée en milligramme équivalent de catéchine par 100g de matière sèche.

#### 5.1.1. Dosage des tanins condensés (test de la vanilline avec $H_2SO_4$ ) (Swain et Hillis, 1959)

#### ❖ Principe

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide. Il est spécifique des flavones3-ols.

## ❖ Mode opératoire

**Solution A** : extrait de l'échantillon.

**Solution B** : vanilline à 1% avec acide sulfurique à 70%.

Prendre 2 ml de la solution B et 1 ml de la solution A. Mettre les tubes au bain marie pendant 15 min à 20C°. Lire l'absorbance à 500nm.

## ❖ Expression des résultats

$$T (\%) = 5.2 \times 10^{-2} \times ((DO \times V) / P)$$

$5.2 \times 10^{-2}$  : Constante exprimée en équivalent de cyanidines ;

DO : Densité optique ;

V : Volume d'extrait utilisé ;

P : Poids de l'échantillon ;

T % : Pourcentage du taux des tanins condensés ;

### 5.1.2. Dosage des tanins hydrolysables au chlorure ferrique (Mole et Waterman, 1987)

## ❖ Principe

Cette méthode est basée sur une réaction avec le chlorure ferrique. Le mélange de l'extrait tannique avec le réactif chlorure ferrique provoque la coloration rouge violet du complexe, d'ou la formation des ions  $Fe^{3+}$ .

## ❖ Mode opératoire

- ✓  $FeCl_3$  / HCl le réactif C ;
- ✓ prendre 1 ml de l'extrait de l'échantillon et on ajoute dans chaque tube 3.5 ml de réactif C ;



- ✓ lire l'absorbance à 660 nm, 15 secondes après l'addition du réactif C.

#### ❖ Expression des résultats

$$T (\%) = DO \times ((M \times V) / E \text{ mole } P)$$

DO : Densité optique ;

Emole : 2169 de l'acide gallique ;

M : 300 ;

V : Volume d'extrait utilisé ;

P : Poids de l'échantillon ;

T % : Pourcentage des tanins hydrolysables.

## 5.2. Dosage des tannins totaux

- **Extraction des tannins par le polyvinyle polypyrolidone (PVPP)**

- ❖ **Principe**

Il consiste à extraire les polyphénols totaux de l'échantillon par l'acétone / eau et à utiliser une matrice insoluble, le polyvinyle (PVPP), substance capable de se complexer avec les tannins (polyphénols de haut poids moléculaire) puis au dosage des polyphénols libres par la méthode de Folin Ciocalteu (FAO/IAEA, 2000).

- ❖ **Mode opératoire**

Une prise d'essai de 2g de matériel végétal est additionnée à 100ml d'acétone / eau à 70 %. Après macération de 24 heures, filtration sous vide, le filtrat est évaporé à sec à 45 C°. Le résidu obtenu est solubilisé dans 5ml d'eau distillée (extrait qui contient les tannins).

- ✓ Vortex le mélange (100mg de PVPP avec 1ml d'eau distillée et 1ml de l'extrait) et le laisser à 4C° pendant 15 min ;

- ✓ Centrifuger à 3000 tours/10min ;
- ✓ Collecter le surnageant ;

Ce surnageant représente seulement les phénols simples puisque les tannins se sont précipités ou retenus par le PVPP. On peut les doser (les phénols simples) par la méthode de Folin Ciocalteu (Makkar et al., 1993).

- **Dosage indirect des tanins par la méthode de Folin Ciocalteu**

Puisqu'on a dosé les poly phénols totaux dans le premier extrait poly phénolique brut et dans le deuxième traité par le PVPP, en conséquence la teneur en tannins totale est :

$$T = X - Y \text{ (FAO/IAEA, 2000)}$$

T : Teneur des tanins ;

X : Teneur des poly phénols totaux ;

Y : Teneur des phénols simples.

### 5.3. Dosage des flavonoïdes (Djeridane et al., 2006)

#### ❖ Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la méthode de chlorure d'aluminium. 1 ml de l'extrait brut (acétone/eau : 70/30) est mélangé avec 1 ml d' $\text{AlCl}_3$  à 2%, après incubation pendant 15 min à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 430 nm.

#### ❖ Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes, est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage (Voir annexe) et exprimée en milligramme équivalent de rutine par 100g de matière sèche.

## 6. Etude du pouvoir antioxydant d'*Opuntia ficus indica*

### 6.1. Mesure de l'activité antioxydant par la technique de DPPH

#### ❖ Introduction

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel (Charfi, 1996). Les extraits sont utilisés pour évaluer leur pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical DPPH.

#### ❖ Principe

Le DPPH (diphénylpicrylhydrazine) est pratiquement le radical libre le plus stable, en solution (méthanol ou éthanol), le DPPH est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515 nm. En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pale (forme d'hydrazine) (Figure 17). Ce passage de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance (DO) qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction de DPPH. Conventionnellement une grande capacité de piégeage (réduction) des radicaux libres est considérée comme une grande activité antioxydant (Parejo et al, 2002).

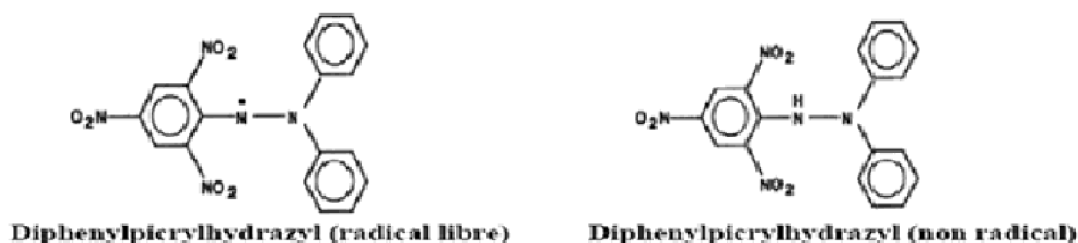


Figure 16 : Structure du DPPH (Wong et al ., 2006 )

#### ❖ Préparation de la solution DPPH

Une solution méthanoliques de DPPH à 0,1 Mm a été préparées (Voir annexe).

#### ❖ Préparation des dilutions

Des dilutions dans du méthanol ont été préparées à partir de l'extrait pour différentes concentrations et cela par la formule suivante :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$C_1$  : Concentration de l'extrait dans 1ml ;

$C_2$  : Concentration voulu dans la dilution ;

$V_1$  : Volume rechercher ;

$V_2$  : volume final.

Une fois le volume rechercher ( $V_1$ ) est calculé, le reste du volume est complété pour atteindre le volume final.

#### ❖ Mode opératoire

- ✓ Un volume de 50 ul de différentes concentrations de l'extrait exprimées en mg/ml est ajouté à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (0.025g/l) fraîchement préparée.
- ✓ Le tube control contient à la place de l'extrait 50 ul de méthanol et 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (0.025g/l) fraîchement préparée.
- ✓ Les tubes blancs contiennent 50 ul de différentes concentrations de l'extrait exprimées en mg/ml et 1,950 ml de méthanol.

Après préparation des extraits, les tubes doivent être placés dans l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes. Après une mesure de l'absorbance s'effectue à 515 nm.

#### ❖ Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition (%) de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante.

$$\text{Inhibition (\%)} = ((\text{Abs}_c - \text{Abs}_e) / \text{Abs}_c) \times 100$$

$\text{Abs}_c$  : absorbance mesuré du control.

$\text{Abs}_e$  : absorbance mesuré de l'échantillon test.

Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne des trois mesures obtenues. Pour chaque extrait, nous avons déterminé la valeur  $EC_{50}$  qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (Samarth *et al.*, 2008).

les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance anti radicalaire (Brand Williams *et al.*, 1995).

$$ARP = 1/ EC_{50}.$$

ARP : puissance radicalaire.

$EC_{50}$  : concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initial du radical DPPH.

## 6.2. Mesure de l'activité antioxydant par la technique de Frap (Ferric reducing antioxidant power)

### ❖ Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). En effet le  $Fe^{3+}$  participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton qui est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

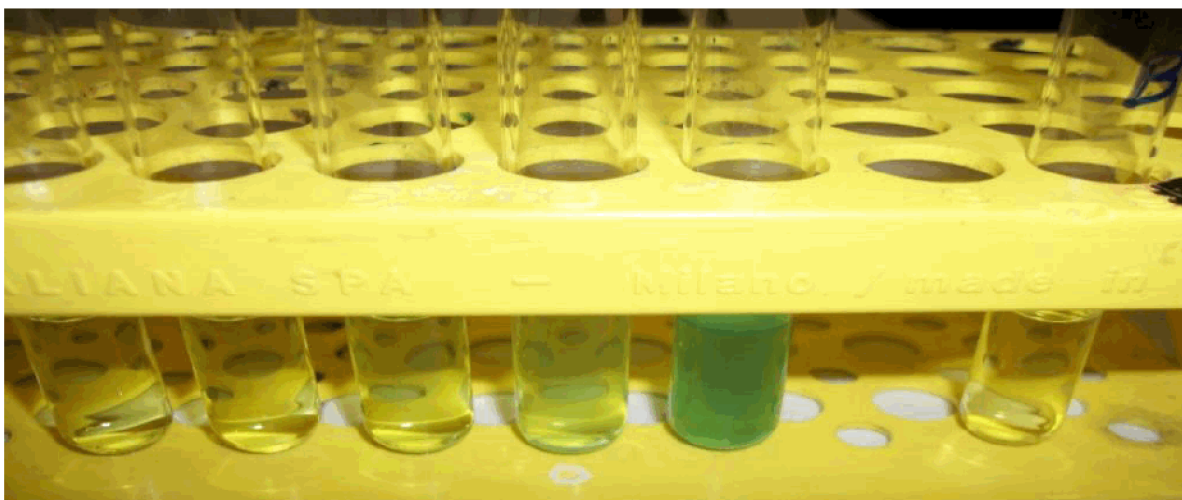


Figure 17: Réduction du fer ferrique en fer ferreux (photo personnel).

**❖ Mode opératoire**

L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par

- ✓ Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%.
- ✓ L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes.
- ✓ 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction.
- ✓ Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes.
- ✓ 2,5ml du surnageant sont mélangés à 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0,1%.
- ✓ La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; 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 (**Hubert, 2006**).

**❖ Expression des résultats**

Pour explorer les résultats obtenus, on doit tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différentes fractions de la plante, L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées **Oyaizu (1986)**.

# ***Chapitre V***

## ***Résultats et discussion***

## ***Résultats et discussion***

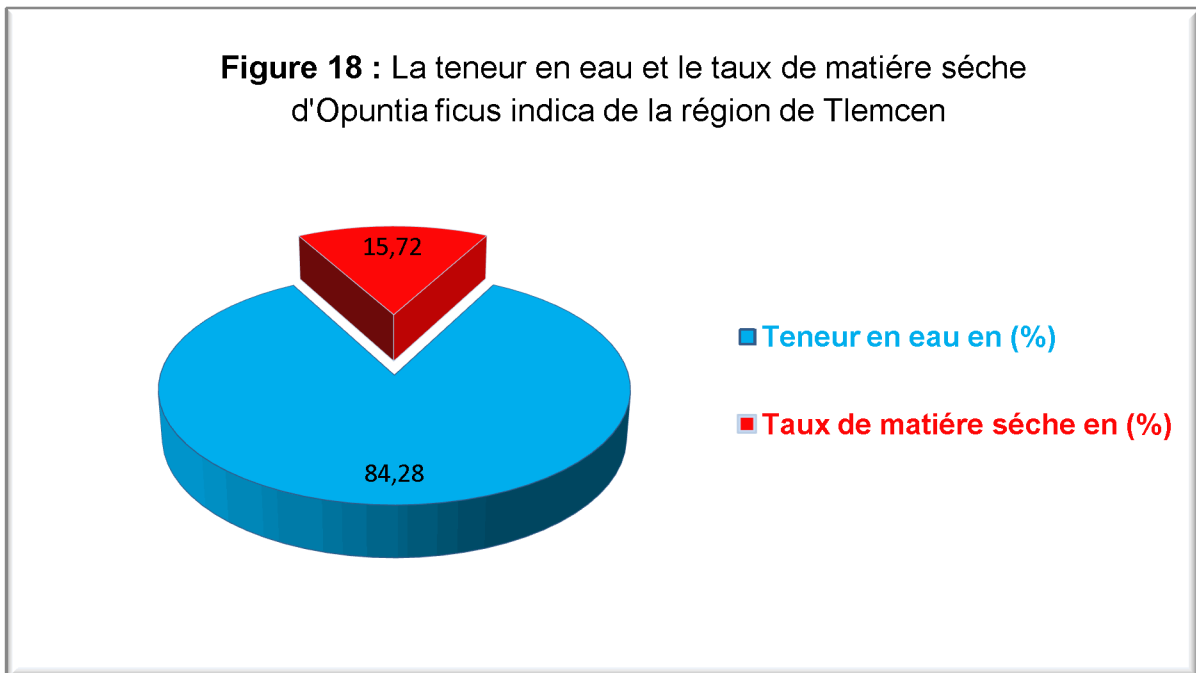


## 1. Détermination de la teneur en eau

L'appréciation de la teneur en eau en matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenue dans l'échantillon à analyser. Lorsqu'un échantillon d'une plante est placé dans une étuve à 105 C° pendant 3 heures, toute l'eau s'évapore et le résidu sec s'appelle matière sèche.

La teneur en eau des fleurs du figuier de barbarie est de 84.28 %, ensuite a partir de cette valeur on a pu déterminer le pourcentage en matière sèche (MS) estimée à 15.72 %.

L'*Opuntia ficus indica* est bien adapté aux climats chauds et secs, voire même désertique, ainsi elle présente des adaptations morphologiques et physiologiques à résister a ces climats, ce qui explique sa richesse en eau.



Nous constatons que comme la plupart des végétaux, notre plante est riche en eau notamment nos fleurs qui disposent d'un plus grand rendement.

## 2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir des fleurs d'*Opuntia ficus indica* et cela en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre fleur. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé de la fleur d'*Opuntia ficus indica*, mentionnés dans le **tableau 04**, montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des anthocyanes et des alcaloïdes dans les fleurs.

La mise en évidence des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge intense ainsi qu'une couleur rose foncé presque rouge dans l'extrait aqueux et cela en contact avec la tournure de magnésium

La présence des tanins est confirmée dans les deux extraits éthanolique et aqueux par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration verte dans les fleurs, il s'agit donc des tanins condensés.

Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence de composés azotés les alcaloïdes mais avec une quantité faiblement importante avec l'apparition d'une turbidité (précipitation) révélée par l'addition des deux réactifs de Mayer ainsi que celui de Wagner.

On a remarqué aussi l'absence totale des saponosides dans les trois extraits de la fleur.

**Tableaux 04** : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques recherchés dans la fleur d'*Opuntia ficus indica*.

Les composés	Extrait aqueux	Extrait éthanolique	Extrait éthérique
Flavonoïdes	+++	+++	-
Tanins	++	+	-
Alcaloïdes	-	+ Mayer + Wagner	-
Saponosides	-	-	-
Anthocyanes	+	++	-

(+++): Test positif ;

(++): Test moyennement positif ;

(+): Test faiblement positif ;

(-): Test négatif.

## 2.1. Les rendements en extraits secs

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondants dans notre plante nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment les flavonoïdes (fraction acétate d'éthyle, n-butanol et éther d'éthylrique), les tanins, les alcaloïdes, et les anthocyanes. Le rendement qui a été déterminé par rapport à 100 g de matériel végétal secs et broyé et exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau 05** :

**Tableau 05** : Les rendements des extraits obtenus de la fleur du figuier de barbarie.

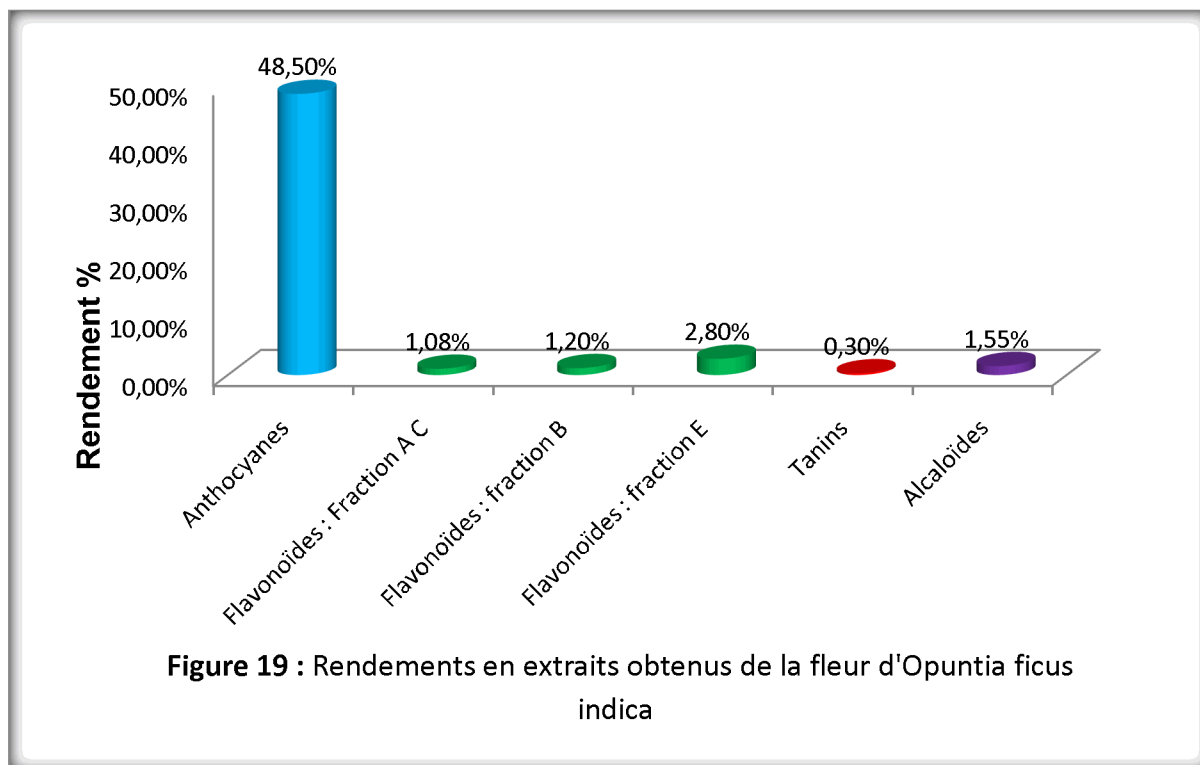
Les extraits	Les solvants utilisés	Rendement (%)
<b>Flavonoïdes : fraction acétate d'éthyle</b>	Acétate d'éthyle	<b>1.08</b>
<b>Flavonoïdes : fraction butanolique</b>	n- butanol	<b>1.2</b>
<b>Flavonoïdes : fraction étherique</b>	Ether d'éthylrique	<b>2.8</b>
<b>Tanins</b>	Acétone/Eau	<b>0.3</b>
<b>Alcaloïdes</b>	Acétone/Eau	<b>1.55</b>
<b>Anthocyanes</b>	HCl/ Méthanol	<b>48.5</b>

Les résultats obtenus pour les différents extraits montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait sec des anthocyanes (48.5%) par rapport aux autres composés phénoliques de la fleur suivie de l'extrait étherique des flavonoïdes (2.8%) et qui présente une légère différence par rapport au autres fractions flavonique, donnés par le classement décroissant suivant : butanolique > acétate d'éthyle qui sont de l'ordre de 1.2% > 1.08%.

De même, le rendement des alcaloïdes (1.55%) est plus important par rapport à celui des tanins (0.3%) et qui est tous a fait plausible vue le résultat des tests phytochimique

montrons la présence d'un seul genre de tanins (le condensés) apparue par une faible coloration vert.

Les différents rendements illustrés dans la figure 20 confirme se qui a été dit par la littérature, que les composés phénoliques par excellence des fleurs sont les anthocyanes responsable de la coloration qui dans notre plante varie du jaune au rouge et que la présence en faible quantité des tanins explique qu'ils ont presque tous étaient transformés en anthocyanes par rupture de leur liaison inter monomérique.



**Fraction A C** : Acétate d'éthyle ;

**Fraction B** : Butanol ;

**Fraction E** : Ether d'éthyle.

### 3. Dosage quantitatif des composés phénoliques

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances de métabolites secondaires qui n'ont aucune valeur nutritionnelle. Ils sont facilement dégradables et les températures élevées favorisent leur oxydation. Parmi ces composés on distingue les flavonoïdes et les tanins.

Dans le but de déterminer la teneur totale des phénols de notre échantillon, un dosage biochimique a été effectué au niveau des extraits. Une courbe d'étalonnage réalisée par l'acide gallique a été tracée pour cet objectif (Voir annexe) et vu le manque des travaux faits sur les composés phénoliques des fleurs d'*Opuntia ficus indica* nous allons comparés tous nos résultat avec ceux des autre partie (Cladodes et graines) du figuier de Barbarie

#### 3.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/100g).

La teneur en composés phénolique connus pour leur rôle antioxydant est de 253.9 mg/100g (**Figure 21**). On comparant nos résultats avec ceux trouvé sur les graines (**Belarbi, 2010**) et les cladodes (**Chikh-Bled, 2011**) de la même plante, nous avons remarqué une variabilité en phénols totaux. La teneur la plus élevée est constaté dans les graines, elle est de l'ordre de 270 mg/100g, suivi de près par les fleurs avec une teneur de 253.9 mg/100g puis les cladodes avec une teneur de 26.7 mg/100g. Ces résultats prouvent la richesse des fleurs et des graines du figuier de Barbarie en polyphénols à savoir les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes.

#### 3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (**Djeridane et al., 2006**). La catéchine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (Voir annexe).

Le dosage quantitatif des flavonoïdes nous a permis d'obtenir une valeur de 91.48 mg/100g (**Figure 20**). On comparant nos résultats avec ceux des gaines et des cladodes qui présentent des taux nettement inférieure avec des valeurs de 22.4 mg/100g et 11.86 mg/100g respectivement. Nous constatons que contrairement aux fleurs, les graines et cladodes sont pauvres en flavonoïdes.

### **3.3. Dosage des tanins totaux, hydrolysable et condensés**

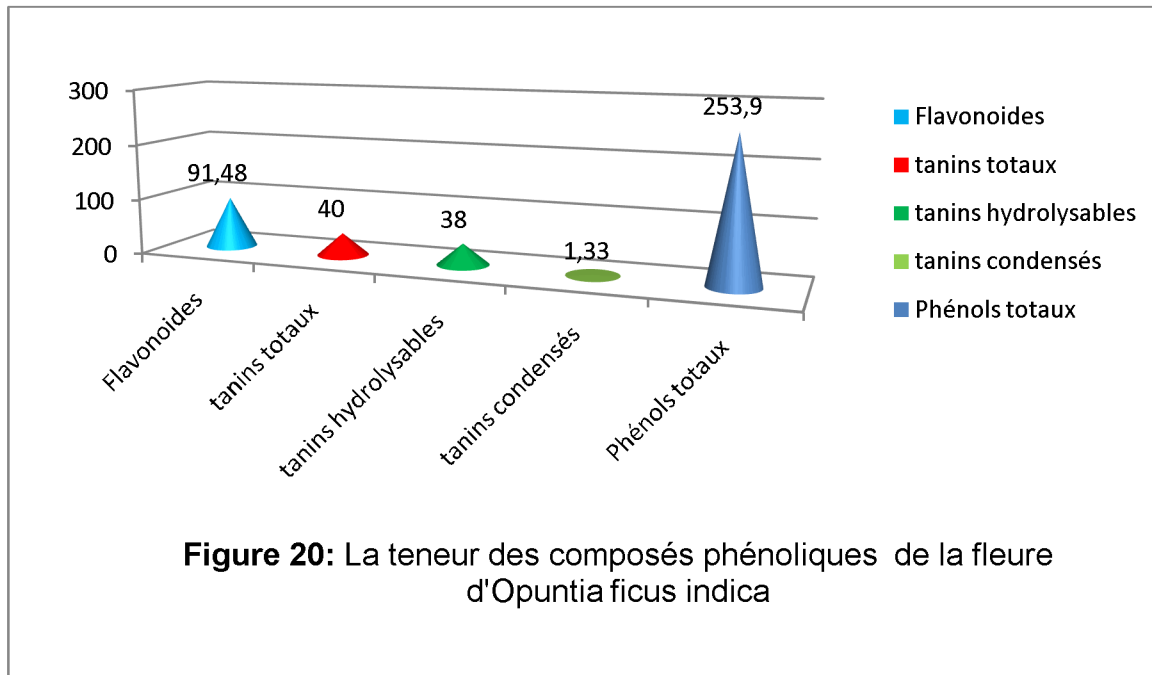
#### **3.3.1. Dosage des tanins totaux**

La quantification des tanins a été effectuée par une méthode adaptée par **FAO/IAEA, 2000**. A partir de la méthode de Folin Ciocalteu qui consiste à doser d'abord les polyphénols totaux puis les phénols simples et la différence de ces valeurs nous a permis d'aboutir à la valeur de 40 mg/100g. Ce qui veut dire que les tanins représentent le un sixième des polyphénols totaux des fleurs d'*Opuntia ficus indica*. Nous avons observé des teneurs variables en tanins dans les trois partie de la plante, à commencer par les graines qui présente la valeur la plus élevé (150 mg/100g) suivie des fleurs avec une valeur 40 mg/100g, ce qui confirme ce qui a été dit par la littérature que les graines contrairement au fleurs, sont connue pour être riche en tanins, puis les cladodes pauvres en tanins avec une valeur de 6.45 mg/100g.

#### **3.3.2. Dosage des tanins hydrolysables et des tanins condensés**

A partir de la méthode de chlorure ferrique qui consiste à doser les tanins hydrolysables par la formation d'ions  $Fe^{3+}$ . Elle nous a permis d'aboutir a la valeur de 38 mg/100g.

Le test de la vanilline avec  $H_2SO_4$ , basés sur la condensation des composés phénoliques spécifique des flavones3-ols nous a permis d'aboutir a la valeur de 1.33 mg/100g pour les tanins condensés et de 38 mg/100g pour les tanins hydrolysable. Si on compare les deux résultats, on s'aperçoit que le taux de tanins hydrolysables est largement supérieur à celui des tanins condensés, mais ces résultats restent inférieurs à ceux trouver dans les graines avec des valeurs de 60 mg/100 et de 70 mg/100g pour les tanins condensés et les tanins hydrolysables respectivement. Les résultats de tous les composés phénoliques rencontré dans les extraits de la fleure sont représentés dans la **figure 21**.



Comme le montre l'histogramme de la figure 21 les concentrations des composés phénoliques sont classés comme suite : Phénols totaux > flavonoïdes > tanins totaux > tanins hydrolysables > tanins condensés. La teneur des phénols totaux est la plus importante suivie des flavonoïdes à des valeurs de 253.9 mg/100g et de 91.48 mg/100g respectivement. De plus le taux (tanins hydrolysables + tanins condensés) est de 39.33 mg/100g ce qui est relativement égale à celui des tanins totaux (40 mg/100g).

#### 4. Etude de l'activité antioxydante

Les composés qui ont été testés par la méthode de réduction de fer et celle de DPPH sont :

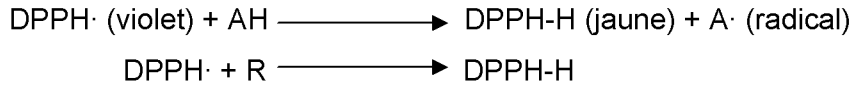
- Les polyphénols totaux des fleurs ;
- Les trois fractions de flavonoïdes : Acétate d'éthyle, n-butanol et l'éther d'éthylique des fleurs ;
- Les tanins totaux des fleurs ;
- Les anthocyanes des fleurs.

L'acide ascorbique est connu pour ses propriétés antioxydantes est utilisé comme contrôle positif.

##### 4.1. Piégeage du radical libre DPPH· (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Le radical DPPH· est l'un des substrats les plus utilisés 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). L'activité antioxydante est

déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH· à 515 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH) donateurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre les équations suivantes (Maisuthisakul et al., 2007, Da Silva Pinto et al., 2008).

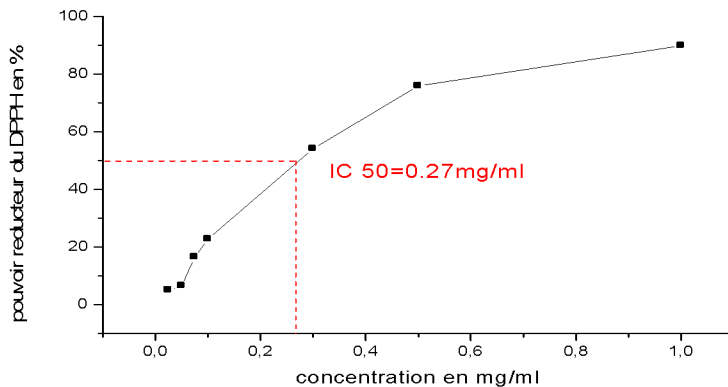


Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante des différents extraits de la fleur afin de localiser la fraction la plus active.

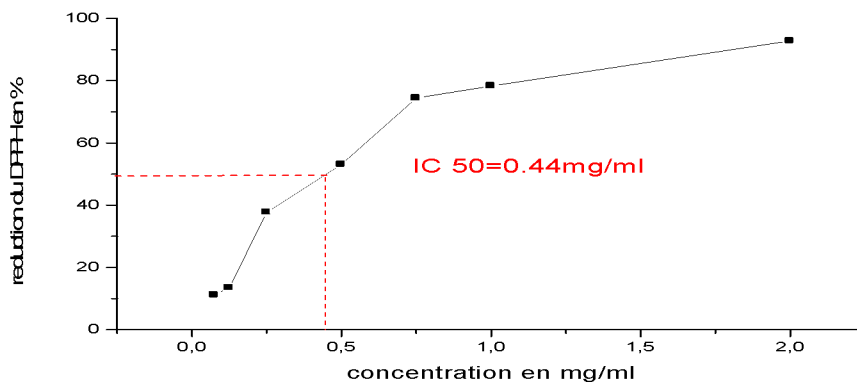
Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH· en sa forme non radicalaire. A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi la valeur d'IC<sub>50</sub> de chaque extrait.

#### 4.1.1. Flavonoïdes (les trois fractions)

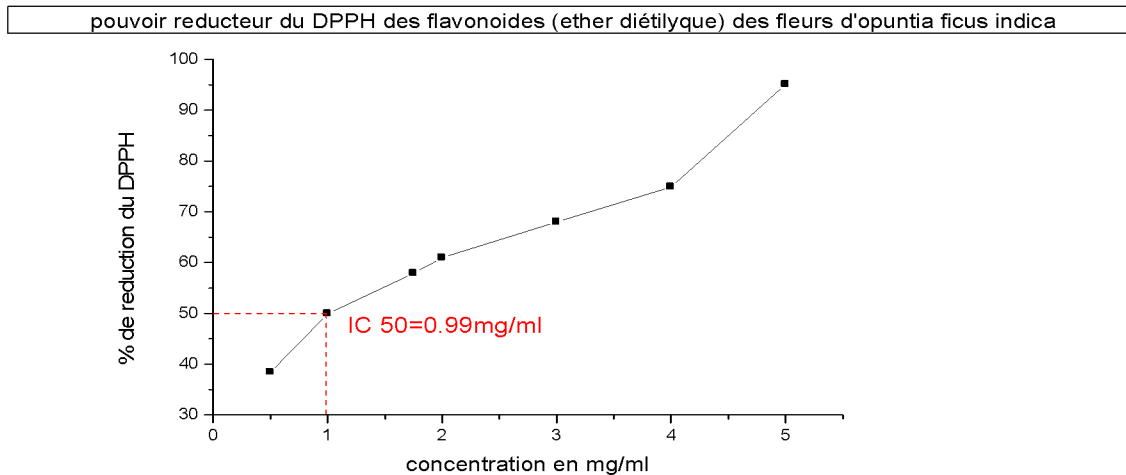
pouvoir reducteur du DPPH des flavonoides (acétate d'éthyle) des fleurs d'opuntia ficus indica



pouvoir reducteur des flavonoides (n-butanol) des fleurs d'opuntia ficus indica



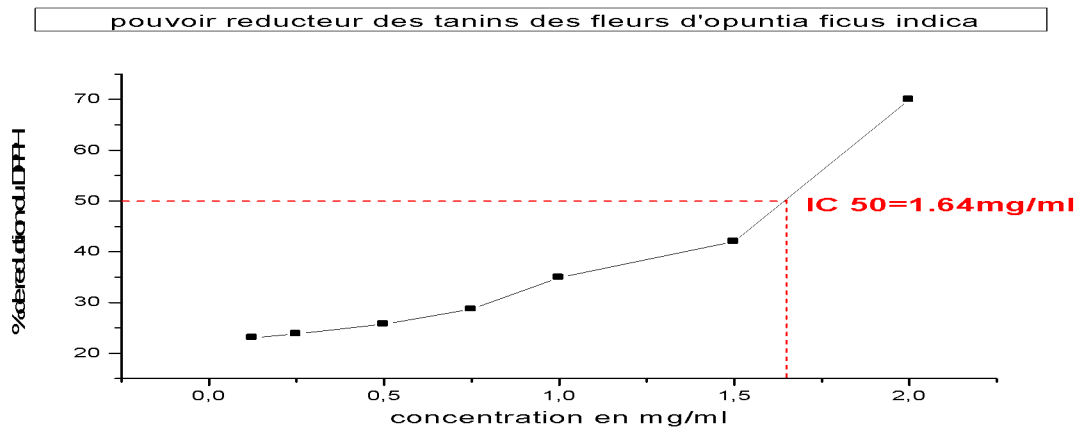




**Figure 21 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH● en fonction des différentes concentrations utilisées pour les fractions acétate d'éthyle, n-butanol et éther d'éthylque de la fleure étudié d'*Opuntia ficus indica*.

L'extrait de la phase acétate d'éthyle des fleures a montré une activité très élevée de piégeage du radical DPPH● par rapport aux deux autres fractions n-butanol et l'éther diéthylique. Elle est très proche de celui de l'acide ascorbique. A une concentration de 0.27 mg/ml le pourcentage d'inhibition de la fraction acétate d'éthyle des fleures est de 89.83 %. La réduction du DPPH● est presque complète à partir de cette concentration. En comparant avec l'acide ascorbique, le pourcentage d'inhibition est de 92 % à une concentration de 0.1 mg/ml. Concernant les deux fractions l'éther d'éthylque et n-butanol des fleures, le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 95.09 % et de 92.80 % respectivement à des concentrations de l'ordre de 0.99 mg/ml et de 0.44 mg/ml respectivement. Ces deux fractions ont donné des activités plus faibles comparées à celle de l'acide ascorbique (**Figure 22**).

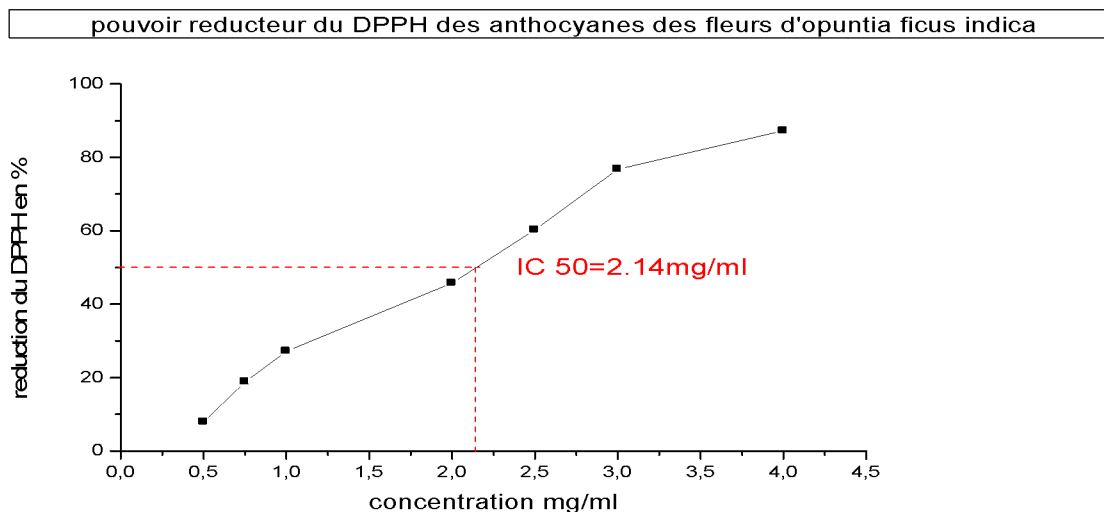
## 4.1.2. Tanins



**Figure 22 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH● en fonction des différentes concentrations utilisées pour les tanins totaux de la fleur d'*Opuntia ficus indica*.

L'extrait des tanins totaux des fleurs a montré un pouvoir du piégeage du radical DPPH● moins que celui des flavonoïdes dans ces trois fractions, et aussi inférieur à celle de l'acide ascorbique. Nous remarquons à une concentration de 1.64 mg/ml le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 69.97 % pour les tanins. Nous pouvons dire que la réduction du DPPH devient presque totale à partir de cette concentration (**Figure 23**).

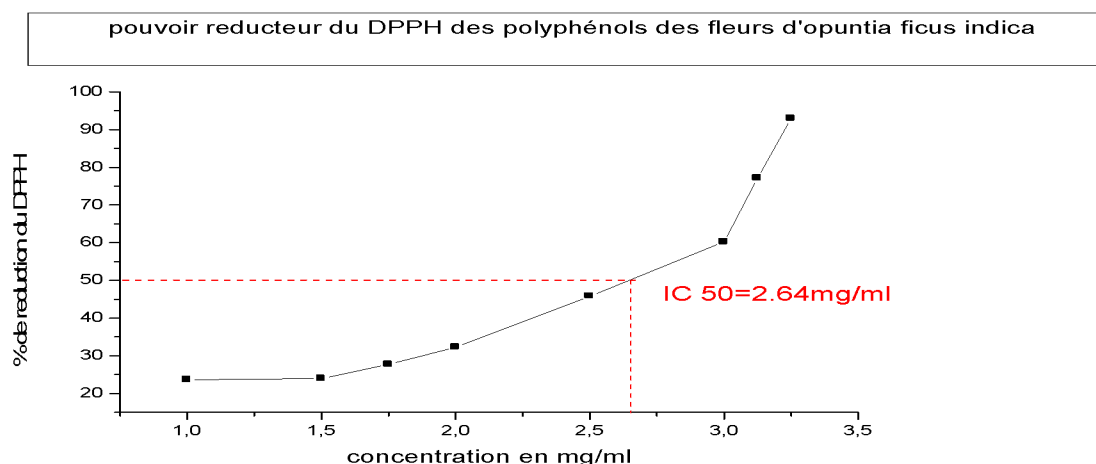
## 4.1.3. Anthocyanes



**Figure 23:** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH● en fonction des différentes concentrations utilisées pour les anthocyanes de la fleur d'*Opuntia ficus indica*.

L'extrait des anthocyanes des fleurs a montré une activité de piégeage du radical DPPH• inférieure à celle de l'acide ascorbique mais intéressante, ceci est démontré par l'allure du graphe qui trace une courbe exponentielle avec la présence d'une phase stationnaire qui définit la réduction presque totale du DPPH• en sa forme non radicalaire à partir d'une concentration de 2.14 mg/ml qui présente un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 87.25 % (Figure 24).

#### 4.1.4. Polyphénols



**Figure 24 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour les polyphénols de la fleur d'*Opuntia ficus indica*.

L'extrait des polyphénols totaux des fleurs a montré une activité de piégeage du radical DPPH• moyenne, et inférieure de celle de l'acide ascorbique à partir d'une concentration de 2.64 mg/ml qui présente un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 93 % (Figure 25).

#### ❖ Calcul des IC<sub>50</sub>

La capacité antioxydant des différents extraits a été déterminée à partir des IC<sub>50</sub>, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH•. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande (Pokorny et al, 2001).

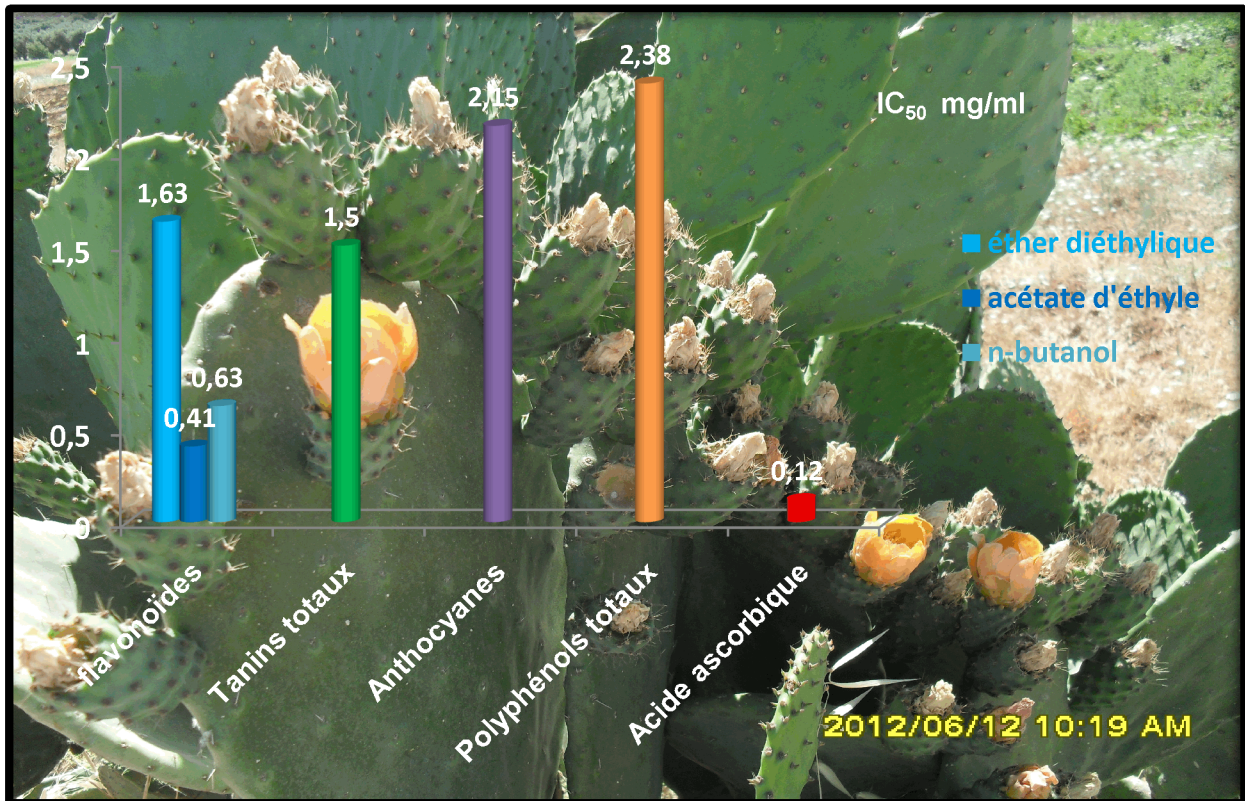
Les valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées pour tous les extraits testés sont représentées dans le tableau 06 et dans la figure 26 sous forme d'histogramme.

Tableau 06 : Valeurs des IC<sub>50</sub> trouvés pour les extraits de la fleur de la plante.

Les différents extraient	IC <sub>50</sub> Exprimées en mg/ml
Flavonoïdes fraction acétate d'éthyle	0.41
Flavonoïdes fraction butanolique	0.63
Flavonoïdes fraction éther diéthylique	1.36
Tanins	1.50
Anthocyanes	2.15
Polyphénols	2.38
Acide ascorbique	0.12

La valeur d'IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique que nous avons calculé (0.12 mg/ml) est proche de celle trouvé par **Benhammou et al, (2009)**. (qui était de l'ordre de 0.11 mg/ml).

En comparant les IC<sub>50</sub> des différents extraits testés de la fleur d'*Opuntia ficus indica* par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué une activité antioxydante élevée de la fraction acétate d'éthyle qui est la plus proche de la capacité du piégeage du radical DPPH● de l'acide ascorbique. Il en est de même pour la fraction butanolique, la fraction étherique, des anthocyanes, des tanins, et des polyphénols qui représentent une activité antioxydante intéressante et comparable au control positif.



**Figure 25 :** Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices 50 des différents extraits en mg/ml.

D'après l'histogramme illustré dans la figure 25, nous pouvons classer les extraits par ordre de réactivité décroissante : **acide ascorbique** > flavonoïdes fraction acétate d'éthyle > flavonoïdes fraction butanolique > flavonoïdes fraction éther diéthylique > tanins totaux > anthocyanes > polyphénols totaux.

Les résultats expérimentaux obtenus montrent que les flavonoïdes fraction acétate d'éthyle présente l'activité la plus importante avec un IC<sub>50</sub> de 0.41 mg/ml suivie de près par la phase butanolique avec un IC<sub>50</sub> de 0.63 mg/ml. Ces deux valeurs sont proches de celle de l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub> = 0.12 mg/ml), ceci suggère que la fleur de cette plante possède des flavonoïdes doués d'activité antioxydante remarquable. En comparant l'activité antioxydante des trois phases de flavonoïdes dans les fleurs de notre plante, nous avons remarqué que la phase acétate d'éthyle présente une meilleure activité par rapport aux deux autres phases butanolique et éther diéthylique.

Puisque la phase acétate d'éthyle est la plus polaire par rapport aux deux autres fractions, donc nous pouvons affirmer que ce sont les flavonoïdes polaires de la fleur d'*Opuntia ficus indica* qui possèdent le meilleur pouvoir antioxydant comparés aux autres flavonoïdes apolaires (fractions éther diéthylique et butanolique).

Nous avons constaté aussi que les tanins présentent une activité intéressante vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un  $IC_{50}$  de 1.5 mg/ml suivie des anthocyanes et des polyphénols totaux avec des  $IC_{50}$  de 2.15 mg/ml et de 2.38 mg/ml respectivement.

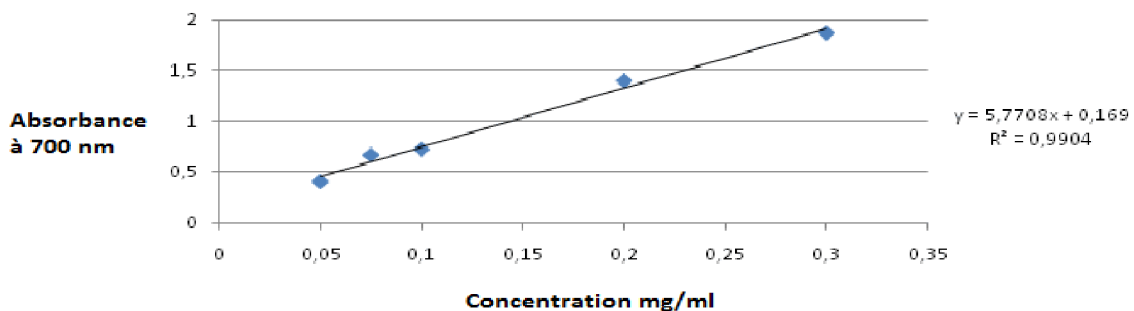
#### 4.2. Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

C'est une analyse de l'activité antioxydante qui est rapide, reproductible, et facile à exécuter. 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).

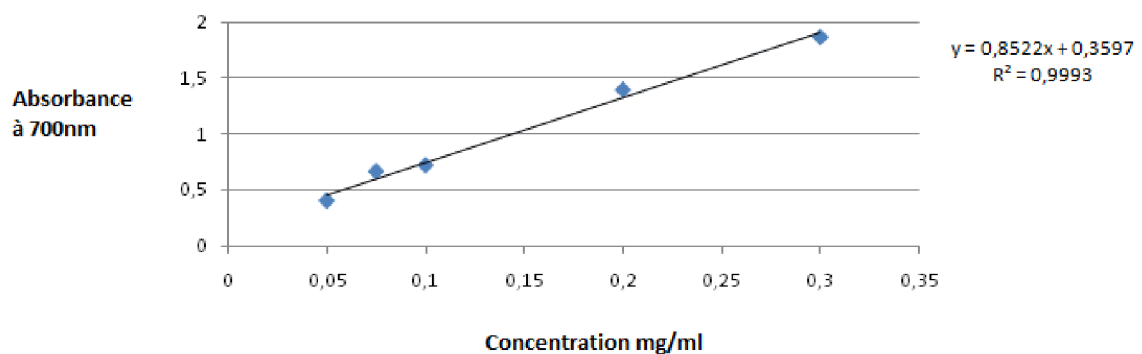
Dans notre travail nous avons opté pour tester les différents extraits de chaque partie de la plante étudiée. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats représentés dans les figures nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons (Ozturk *et al*, 2007 ; Su *et al*, 2008 ; Liuk *et al*, 2009).

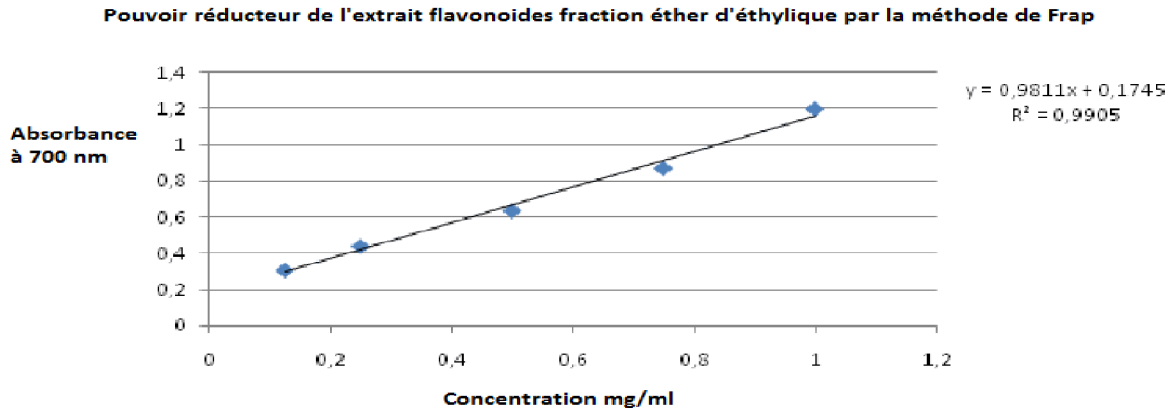
##### 4.2.1. Flavonoïdes (les trois fractions)

Pouvoir réducteur de l'extrait flavonoïdes fraction acétate d'éthyle par la méthode de Frap



Pouvoir réducteur de l'extrait flavonoïdes fraction n-butanol par la méthode de Frap

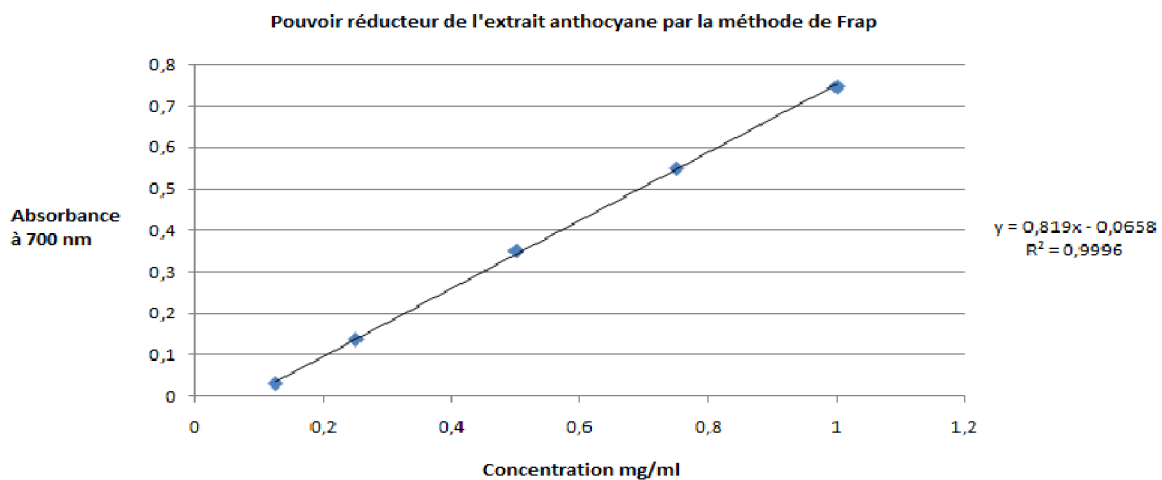




**Figure 26 :** Pouvoir réducteur des trois fractions flavoniques (acétate d'éthyle, n-butanol, éther diéthylique) par la méthode de FRAP.

Les résultats obtenus dans la figure 27, montrent que la capacité à réduire le fer dans les trois fractions des flavonoïdes est élevée. La phase acétate d'éthyle présente une capacité à réduire le fer avec une densité optique (DO = 0.662) à une concentration de 0.075 mg/ml meilleure que celle de l'acide ascorbique qui présente une DO de 0.601 mg/ml a une concentration de 0.1 mg/ml. La phase n-butanol présente une très bonne activité réductrice et qui est presque semblable à celle de l'acide ascorbique avec une DO = 0.525 à une concentration de 0.2 mg/ml. Elle est suivie par la phase éther d'éthylque qui présente aussi une activité réductrice remarquable par rapport a celle de l'acide ascorbique avec une DO = 0.576 à une concentration de 0.5 mg/ml (**Figure 26**). Ces résultats des trois extraits des flavonoïdes illustrés par la méthode de FRAP viennent confirmer ceux fait par la méthode de DPPH

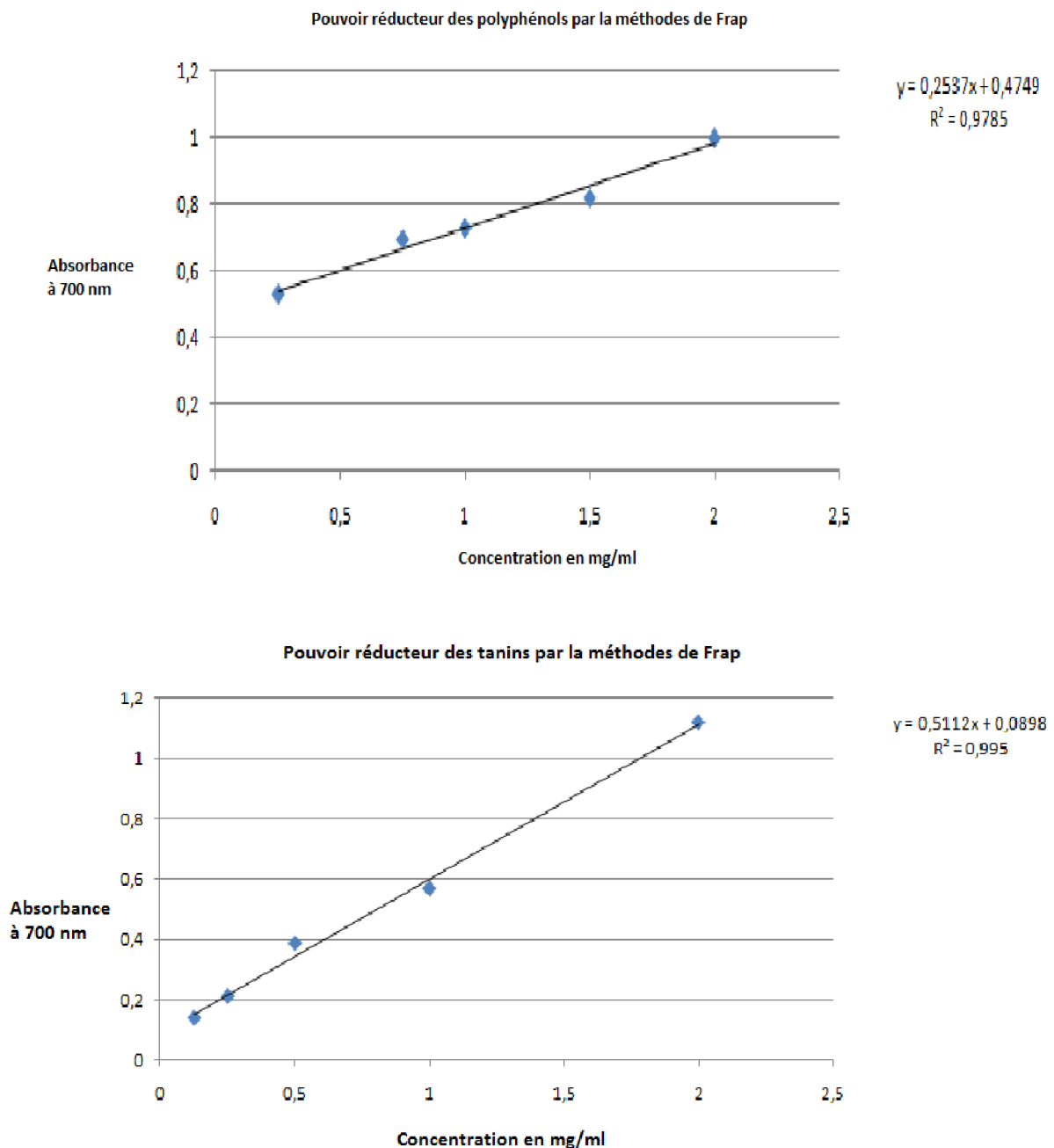
#### 4.2.2. Anthocyanes



**Figure 27 :** Pouvoir réducteur des anthocyanes par la méthode de Frap

L'extrait des anthocyanes des fleurs présente une capacité intéressante pour réduire le fer avec une densité optique de 0.551 à une concentration de 0.75 mg/ml, inférieure à celle de l'acide ascorbique (DO = 0.601) à une concentration de 0.1 mg/ml et plus au moins proche aux flavonoïdes dans la fraction éthérique mais cette capacité reste toujours inférieure à celle du contrôle positif (**Figure 27**).

#### 4.2.3. Tanins et Polyphénols

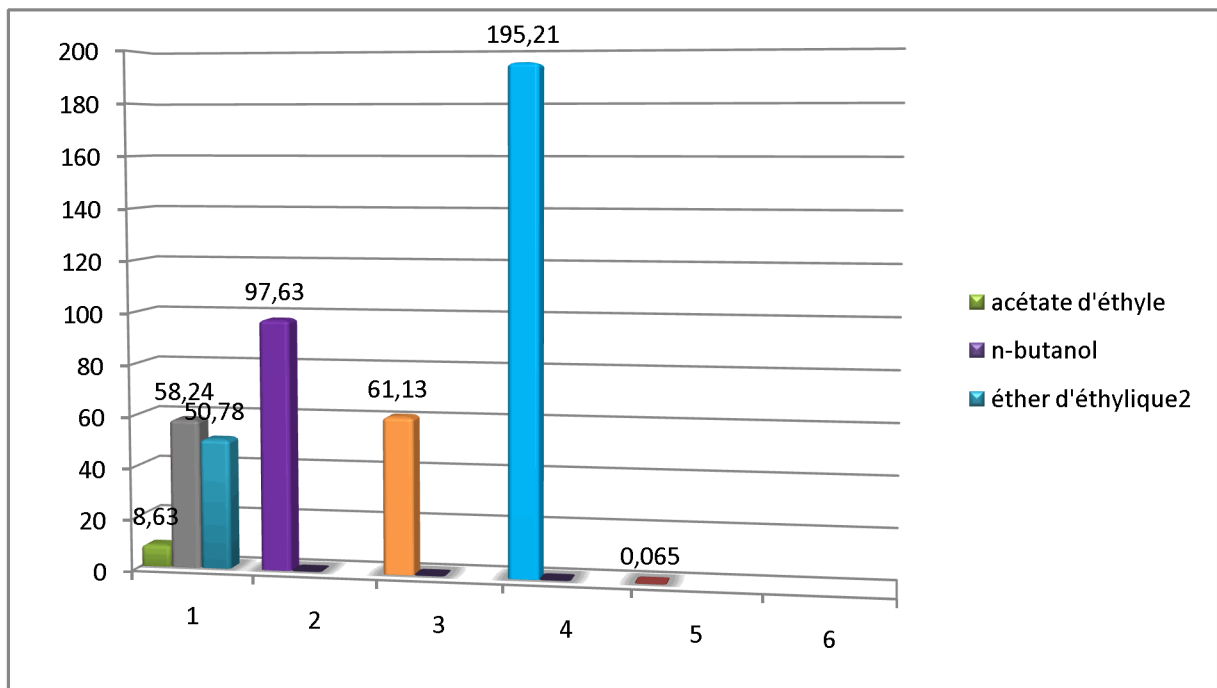


**Figure 28** : Pouvoir réducteur des tanins et des polyphénols par la méthode de Frap.



Nous remarquons dans les graphes illustrés dans la figure 29 que la capacité à réduire le fer des polyphénols et des tanins dans la fleur est plus au moins similaire pour des densités optiques de 0.529 et de 0.569 respectivement à une même concentration à 1 mg/ml. Mais comparable à l'acide ascorbique et aux autres extraits flavoniques, elles sont nettement inférieures.

Afin de comparer l'activité antioxydante des différents extraits de la fleur par cette méthode, nous avons calculé EC<sub>50</sub> qui est défini comme la concentration nécessaire pour réduire 50 % du fer. Les résultats obtenus sont illustrés sous forme d'histogramme dans la figure 30.



**Figure 29 :** Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50 % du fer des différents extraits de la fleur en mg/ml.

- 1 : Flavonoïdes ;
- 2 : Tanins ;
- 3 : Anthocyanes ;
- 4 : Polyphénols ;
- 5 : Acide ascorbique.

Nous remarquons que la capacité à réduire le fer est variable entre les différents extraits de la fleur. Elle est beaucoup plus importante dans l'extrait des flavonoïdes de la fraction acétate d'éthyle (EC<sub>50</sub> = 8.63 mg/ml) suivie de la fraction éther diéthylique et n-butanol des fleurs (EC<sub>50</sub> = 50.78mg/ml et EC<sub>50</sub> = 58.24 mg/ml respectivement) par rapport aux autres extraits qui représentent une très faible activité. Nous pouvons déduire que tous les extraits de la fleur d'*Opuntia ficus indica* ont une activité pour réduire le fer mais cette

activité est inférieure à celle de l'acide ascorbique sauf celui des flavonoïdes (fraction acétate d'éthyle : 0.075 mg/ml).

Nous pouvons classer la puissance de réduction de fer des différents extraits comme suit : Flavonoïdes fraction acétate d'éthyle > **acide ascorbique** > flavonoïdes fraction éther diéthylique > flavonoïdes fraction n – butanol > anthocyanes > tanins totaux > polyphénols totaux des fleurs.

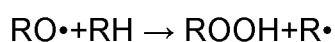
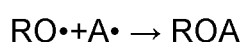
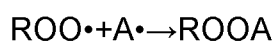
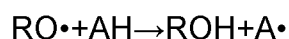
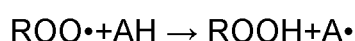
La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Yang et al, 2008**).

Beaucoup de publications ont indiqué qu'il y a une corrélation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (**Yildirim et al., 2001**).

### 4.3. Conclusion de l'activité antioxydante

Les extraits des flavonoïdes sont plus actifs que les extraits tanins totaux, anthocyanes et polyphénols totaux cela est due à la complexité des ces extraits en substances polyphénoliques et à la non synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante.

BOLAND et TENHAVE ont postulé en 1947 les réactions selon lesquelles les composés phénoliques (AH) interfèrent avec l'oxydation des lipides en cédant leurs hydrogènes aux radicaux lipidiques, puis entrent en compétition avec les réactions de propagation (**SHAHIDI et NACZK, 2004**).



L'efficacité de l'antioxydant (AH) augmente si la force de la liaison A-H est faible et le radical (A) résultant doit être le plus stable possible, ce qui est le cas pour les composés phénoliques et les flavonoïdes, se sont des meilleurs donneurs d'électrons ou d'hydrogène (**SHAHIDI et NACZK, 2004**) et des chélateurs des ions métalliques (**PRATT et HUDSON, 1990 ; LADANIYA, 2008**). Plusieurs études ont montrés que les groupements hydroxyles dans les composés phénoliques et flavonoïdes sont responsables de leurs pouvoirs

antioxydants (HEIGNEN *et al*, 2001 ; HEIM *et al*, 2002), et aussi les sites d'hydroxylation des différents noyaux affectent la potentialité antioxydante (URI, 1961). Pour les flavonoïdes, les formes aglycones sont plus actives que les formes glycosylées (SHAHIDI *et NACZK*, 2004).

Les activités des extraits flavoniques sont généralement proches de celles des extraits bruts. Selon DJERIDANE *et al* (2006), les flavonoïdes représentent un groupe important de composés phénoliques chez l'*Opuntia ficus indica*.

En général, les activités de nos extraits sont moyennes en général, cela est due généralement à la synergie entre les différents composés antioxydants existants, ce qui rend l'activité non seulement concentration-dépendante.

# ***Conclusion Générale***

### Conclusion générale

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

L'*Opuntia ficus indica* et les produits dérivés, ne sont pas valorisés comme ils devraient l'être en Algérie, c'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et le pouvoir antioxydant de différents extraits de la fleur de cette espèce de la région de Tlemcen.

Les premières analyses mettent en évidence sa teneur en eau qui est de 84.28 %. D'autre part les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des anthocyanes, des alcaloïdes dans la fleur de la plante.

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondants dans notre plante nous a permis de calculer le rendement massique de chaque extrait notamment les flavonoïdes (fraction acétate d'éthyle, n-butanol et éther d'éthylque), les tanins, les alcaloïdes et les anthocyanes qui présente le rendement le plus remarquable (48.5 %).

La teneur de phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins totaux, tanins hydrolysable et tanins condensés est variable dans la fleur d'*Opuntia ficus indica*. La teneur la plus élevée est celle des phénols totaux avec 253 mg/100g suivie des flavonoïdes > des tanins totaux > des tanins Hydrolysable > tanins condensés qui sont de l'ordre de 91.48 mg/100g, 40 mg/100g, 38 mg/100g, 1.33 mg/100g respectivement. On peut conclure que nos fleurs étaient particulièrement riches en tanins notamment les tanins hydrolysable et en flavonoïdes par rapport aux tanins condensés qui apparaisse pauvres. Ces résultats importants reflètent la richesse de chaque partie de la fleur en polyphénols à savoir les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes, et les alcaloïdes.

Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant de tous les extraits des différentes parties de la fleur par la capacité de piégeage de radical DPPH● et de réduction de fer, afin de localiser la fraction qui représente l'activité la plus élevée.

Nous avons constaté pour l'activité antioxydante par la méthode FRAP, que tous les extraits de la fleur étudiée ont la capacité de réduire le fer qui augmente en fonction de la concentration. Comme nous avons remarqué que l'extrait des flavonoïdes de la fraction acétate d'éthyle de notre fleur présente une capacité remarquable (0.075 mg/ml) pour réduire le fer par rapport aux autres extraits et meilleure que celle de l'acide ascorbique (0.1 mg/ml).

Cependant, pour le piégeage du radical libre DPPH● et en comparant les  $IC_{50}$  des différents extraits testés de la fleur d'*Opuntia ficus indica* par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué une activité antioxydante très importante de la fraction acétate d'éthyle ( $IC_{50} = 0.41$  mg/ml) qui est presque similaire à la capacité du piégeage du radical DPPH● de l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 0.12$  mg/ml). Il en est de même pour les fractions butanolique, étherique, des tanins, des anthocyanes, et des polyphénols qui représentent une activité antioxydante intéressante. L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons dire que les extraits de la fleur d'*Opuntia ficus indica* ont une bonne activité antioxydante et une capacité de piégeage de radicaux libres intéressante en particulier la fraction acétate d'éthyle des flavonoïdes. Cette analyse trouve une importante application dans l'industrie pharmaceutique comme elle peut trouver aussi une application dans l'industrie alimentaire.

Dans un deuxième temps, il serait intéressant d'évaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes et de faire des tests in vivo afin de déterminer de nouveaux agents thérapeutiques.

# ***Références Bibliographiques***

### Références bibliographiques

1. Abara A., Collado M., Boutouba A., Sahnoun A. 2009. Nouveaux aliments pour les ruminants à base de fruits de cactus. Direction d'élevage 176. P2.
2. Abid L. 2009. Recherche des activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Schinus molle* L. et *Pistacia vera* L. de la région de Tlemcen. Magister 167/05.
3. AFMO. 2004. Cholestérol et athérosclérose prise en charge bionutritionnelle. Code APE 94127. p 8.
4. ARBA m. 2000. Les *Opuntia* fruits comestibles dans certaine régions du Maroc. Dans 2ème journée nationale sur la culture du cactus. El Lelaa.DES sraghna-Maroc.
5. Audigie C.L. ? Figarelle J., Zons Zani F. 1980. Manipulation d'analyses biochimiques. Ed. Doin. Paris, 4-7.
6. Bahorun, T. (1997). Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* , p 83.
7. Barbagallo R.N. Spagna G. 1999. *Inde. Aliment.* 38(383). 815-817.
8. Belarbi, 2010. Contribution à l'études phytochimique et l'activité antioxydante de la graine d'*Opuntia ficus indica* de la region de Tlemcen.
9. Benhammou, N; Atik Bekkara, F; Kadifkova, P. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf, *Advances in Food Sciences*, 29(3), 155-161.
10. Benzie, I.F.F. et Strain, J.J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a
11. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. et Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28: 25-30.
12. Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). *Lavoisier Techniques & Documentation*. Paris, 369-388.
13. Bruneton J. 1993. Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier. 278-279p.
14. Burkina Faso. (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.



15. Chikh-Bled Nesrine. 2011. Contribution a l'étude photochimique des cladodes du Figuier de Barbarie *Opuntia Ficus Indica* de la région de Tlemcen. Université Aboubakr Belkaid Tlemcen. Mast. Bio. 100/01.
16. Content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, *Food Chemistry*, 111: 400-407.
17. Croteau R. KUTCHAN T.M. Lewis N.G. 2000. Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular Biology of plants*. 24. 1250-1251.
18. Cuendet, M. (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* »
19. Dauget J.C., Foucher J.P. (1982). Les flavonoïdes de *Arbutus unedo* L. (Ericacées). *Plantes médicinales et phytothérapie*, 16 (3), 185-191.
20. Delatter J., Durand G., Jardillier J.C. 2003 *Biochimie pathologie*. ED Flammarion : 60.
21. Djeridan A., Yousfi M., Nedjmi D., Boutassouna D., Stoker P., Vidal N., (2006). Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds *foods chemistry*; 97; 654-660.
22. Dwyer J. 2006 starting down the right path : nutrition connections with chronic diseases of later life. *Am J Clin Nutr*. 83(2):415S-420S.
23. El Mannoubi S. Barrek T. Skanji H. 2008. Etude de la composition de la fraction volatile des grains du Figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). *Journal de la Société Chimique de Tunisie*. 10. 61-67.
24. El Nopal. [http://www.giga.com/~mag/English\\_Trat\\_%20Nopal.htm#Ppear](http://www.giga.com/~mag/English_Trat_%20Nopal.htm#Ppear)
25. FAO/IAFA. 2000. Quantification of tannin in tree foliage. FAO/IAEA. Working document IAEA, Vienna. P6.
26. Favier A., 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
27. For their radical scavenging activity and antioxidant activity, *Life Sci*, 73 : 1667-81.
28. Guérin. 1999. Valeur alimentaire des fourrages cultivés. 93-137.
29. Hadj Sadok T. Aid F. Belle M. Abdelhussain M.S. (2008). Composition chimique des jeunes cladodes d'*Opuntia Ficus Indica* et possibilité de valorisation alimentaire. *Agricultura*. 65-66.
30. HEIGNEN C.G.M., HAENON G.R.M.M., VEKEMANS J.A.J.M. et BAST A.; 2001; Peroxynitrite scavenging of flavonoids: structure activity relationship; *Environ. Toxicol. Pharmacol* 10; p: 199-206.

31. *Hoslundia opposita vahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth.* Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées,
32. Hubert, A.J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments, p 174.
33. INRA. 1988. Principes de la nutrition et de l'alimentation des ruminants. Besoins alimentaires des animaux. Valeur nutritive des aliments. *Jarrige R. éd. Versailles, France, Inra, actualités scientifiques et agronomiques.* p596
34. *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
35. Kansole, M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis (Jacquin) R. Brown*,
36. Karagozler, A; Erdag, B; Calmaz Emek, Y. (2008). Antioxydant activity and proline
37. Kavirindi, I.U., Du Preez, P.J. & Brown, L.R. 2010. Distribution and potential invasion of *Opuntia* spp. on selected Namibian sites. Entebbe, Uganda.
38. Koppenol W.H. 2001. Weiss cycle, 70 years later. *Redox rep.* 6: 229-34.
39. Lebham, 2005. Thèse au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM)-Université de Bretagne Occidentale (UBO).
40. Lefrancois P., Ruby F., Dionne JY. 2007. Nopal, Passeportsanté, consulté le 17/01/2008.
41. Lennie T. A., 2006. Nutritional recommendations for patients with heart failure. *J Cardiovasc Nurs.* 21(4): 261-8.
42. Longo, L; Scardino, A; Vasapollo, G. 2007. Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L, *Phyllirea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative, Food Science and Emerging Technologies*, 8 : 360-364.
43. Maataoui B. S. Hmyene A. Hilali S. (2005). Activités anti-radicalaires d'extraction de jus de fruit du Figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). *Lebanese Science Journal. Vol 7. No 1.*
44. Macheix J.J. Fleuriet A. Sarni- Manchado P. 2005. Les composés phénoliques dans la plante: Structure, biosynthèse, répartition et rôles. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Cheynier V. Sarni-Manchado P. Ed. *Tec et Do. Lavoisier. Paris.*

45. Maisuthisakul, P; Suttajit, M; Pongsawatnait, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some that indigenous plants, *Food Chemistry*, 100: 1409-1418.
46. Makkar H.P.S.? blummel M., Beker K. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlation with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.*, 61, 161-165.
47. Marc Schweizer. 1999. Docteur Nopal le médecin du BON Dieu. 2-912978-07-6. Mexico (p 246).
48. Michel Derouet. 2010.  
[http://www.cactuspro.com/articles/cactus\\_et\\_conflits\\_genetiques](http://www.cactuspro.com/articles/cactus_et_conflits_genetiques)
49. Mole S., Waterman P.G. (1987). Tannic acid proteolic enzymes: enzyme inhibition substrat derivation. *Phytochemistry*, 26, 99-102.
50. Mulas M, Mulas G. 2004. Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la désertification. université des études de Sassari. Groupe de recherche sur la désertification (p 57, 60).
51. Nefzaoui A. Ben Salem H. Ben Salem L. 1995. Ewe-lambs feeding with cactus-based diets. Effet of the type of nitrogen supplement. International Symposium on the nutrition of Herbivores-Satellite "Ruminant use of fodder resources in warm climate countries" Montpellier (France). 7-9 Sept 1995.
52. Nerd A. Karadi A. Mazhari Y. 1991. *Plants soil*. 137(2). 201-207.
53. Ortega-Nieblas M., Molina-Freaner F., *et al.*, 2001, *Journal of Food Composition and Analysis*, 14 : 575-584
54. Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine,
55. Parejo, I ; Viladomat, F ; Bastida, J ; et al. (2003). Investigation of Bolivian plant extracts
56. Piattelli M. Minale L. prota G. 1964. Isolation structure and absolute configuration of indicaxanthin. *Tetrahedron*. 20(2325). 9.
57. Pimienta-Barrios E., 1990. El nopal tunero. Edizioni dell'Università di Guadalajara,
58. Pinkava DJ. *Opuntia* Miller. 2004. in *Flora of North America* Editorial Committee (Eds.) *Flora of North America North of Mexico*, Vol. 4: Magnoliophyta: Caryophyllidae, Part New York and Oxford. On-line version.
59. PIQUET M. A. et HÉBUTERNE X. ; 2007 ; *Nutrition en pathologie digestive* ; Ed : DOIN ; p: 16-20.
60. Pokorny, J; Yanishlieva, N; Gordon, M. (2001). *Antioxydants in food, Practical applications*. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.

61. Poupon J.E. 1975. Cactus et ressources fourragères dans amélioration et aménagement des parcours forestiers. MAMVA.
62. PRATT D.E. et HUDSON B.J.F.; 1990; Natural antioxidants not exploited commercially in Food Antioxidants; Ed: ELSEVIER APPLIED SCIENCE, London; p: 171–192.
63. Rémésy C. Manach C. Demingne C. Texier O. Regeat F. 1996. Intérêt des flavonoïdes. *Med et Nutr.* 22. 247-258.
64. Rice-Evans, C. et Miller, N.J. (1993) Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Meth. Enzymol.* 234: 279-293
65. Salunkhe D.K. 1990. Dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton. Florida: CRC press.
66. Sawaya W.N.; Kalil J.K. ; AL-Mohamed M.M.(1983). *Qual.Plant-Plant Foods Hum., Nutr*, 1983,33(1) ,91-97.
67. Scalbert ET Williamson. 2000. Dietary polyphenols and health: proceedings of the 1ST international conference on polyphenols and health.
68. SHAHIDI F. et NACZK M.; 2004; Extraction and analysis of phenolics in food; *Journal of Chromatography A* 1054; Ed: ELSEVIER; p: 95-111.
69. Singleton V.L., Ortoger R., Lamyela-Raventos R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. In : Packer L. (ED). *Methods in Enzymology*. Orlando. Academic Press. 152-178.
70. SMYTHIES J.R.; 1998; Every Person's Guide to Antioxidants; Ed: BRITISH CATALOGING; p: 89-110.
71. SPLF. 2003. Guidelines for the clinical management of COPD. Oxygen therapy and long-term ventilator assistance. *Rev Mal Respir.* 20: S50-3.
72. Stintzing FC. Schieber A. Carle R. 2002. Identification of betalains from yellow beet (*Beta Vulgaris* L) and cactus pear [*Opuntia Ficus Indica* (L) Mill.] by high-performance liquid chromatography-electro spray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem.* 50(2302). 7.
73. Sutton B.C. Ting I.P. Sutton R. 1981. *Plant Physiol.* 68(3). 784-787.
74. Swain T., Hillis W.E. (1959). The phenolics constituents of *prunus domestica* -1- the quantitative analysis of phenolics constituents. *J. of the Sci. of Food and Agric.*, 10, 13.
75. Trease E; Evans W.C.(1987). *Pharmacognosy,Billiare.Tindall.Londone* 13 th Edn ; pp : 61-62.

76. URI N.; 1961; Mechanism of antioxidation; Ed: SCIENCE PUBLISHERS, New York; p: 133-169.
77. Vermerris, W. (2006). Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-40-5163-8 (HB).
78. Vlavonou. 2009. Influence de la fumure azotée et de la densité des plants sur la production et la qualité des semences du panicum maximum local dans le sud du Benin. Université Africaine de Technologie et de Management.
79. Wallace R.S., Gileson A.C. 1997. Evolution and Sustematics. Dans Cacti : Biology and uses ; P. S. Nobel ED. 1-21
80. WONG S. P., LEONG L. P. et KOH J.H.W.; 2006; Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants; Food Chemistry 99; p: 775–783.
81. Yan, J; Guo, J; Yuan ,J .(2008). In vitro antioxyadnt properties of rutin, LWT, 41: 1060- 1066.
82. Yildirim, A; Mavi ,A; Kara, A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4083-4089.
83. Youcef Habibi. 2004. Contribution à l'étude morphologique, ultra structurale et chimique de la Figue de Barbarie Les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique. Université Joseph Fourier.
84. @3:[www.univers-nature.com/sante-nature/glutathion-antioxydant-detoxydant-immunostimulant.html](http://www.univers-nature.com/sante-nature/glutathion-antioxydant-detoxydant-immunostimulant.html)

# *Annexes*

**Annexe 01** : Réactifs de caractérisation➤ **Alcaloïdes**

La caractérisation des alcaloïdes se fait par :

- **Réactif de Mayer** : la préparation de ce réactif s'effectue comme suit :
  - ✓ Dissoudre 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> dans 60 ml d'eau ;
  - ✓ Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau ;
  - ✓ Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité blanc

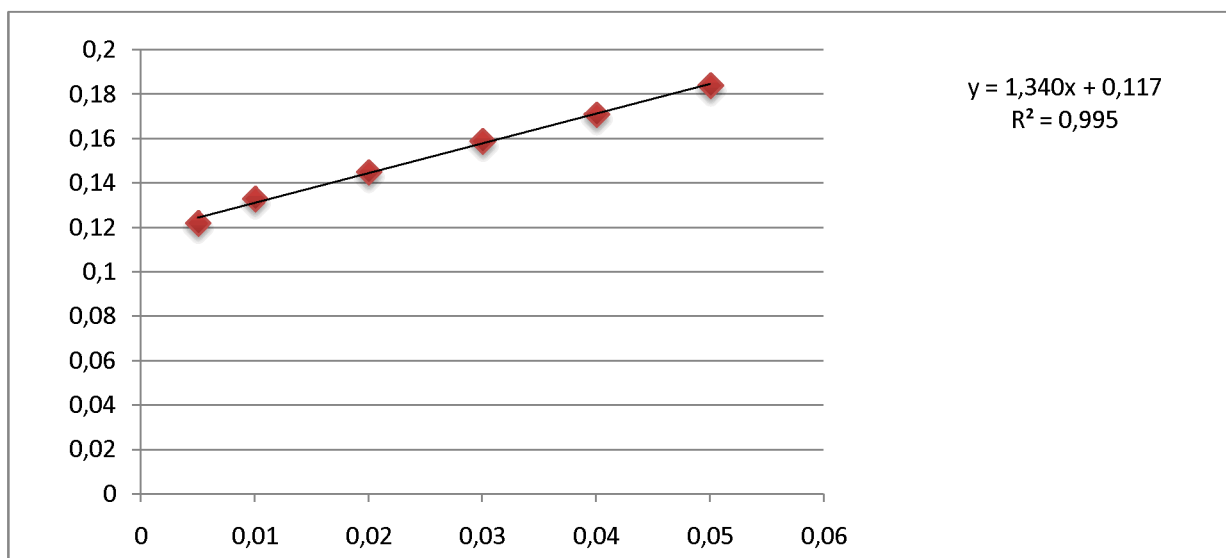
- **Réactif de Wagner** : ce réactif a été préparé comme suit :
  - ✓ Dissoudre 2 g de KI et 1,27 de I<sub>2</sub> dans 75 ml d'eau ;
  - ✓ Ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

**La gamme d'étalon des flavonoïdes à partir de la catéchine**

A partir d'une solution mère de catéchine 2 mg/ml on prépare des dilutions à différentes concentrations ensuite on prélève 1 ml de chaque dilution ;

- ✓ On ajoute 1 ml de AlCl<sub>3</sub> à 2% puis on mélange au vortex ;
- ✓ Après incubation de 15min, on lit l'absorbance à 430 nm ;
- ✓ Réalisation de la courbe d'étalonnage.

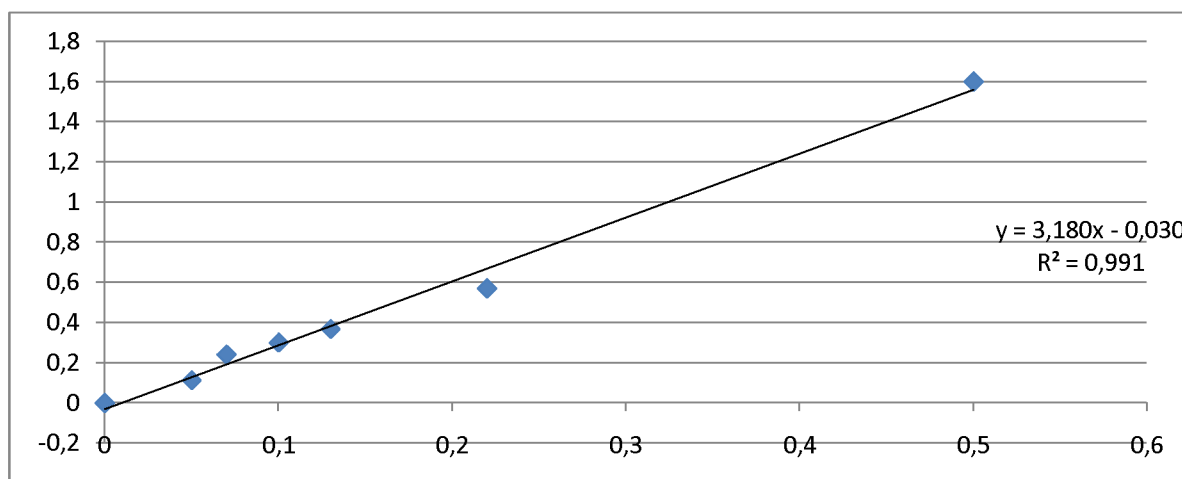


### La gamme d'étalon des polyphénols à partir de l'acide gallique

La concentration d'un composé phénolique, l'acide gallique, sera déterminée grâce à une gamme étalon, pour cela :

A partir d'une solution mère de l'acide gallique de 2 mg/ml, on prépare des dilutions à différentes concentrations, ensuite on prélève 5ul de chaque dilutions ;

- ✓ Ajouter a ce volume 1.7 ml d'eau distillée ;
- ✓ Ensuite, ajouter 300ul de réactif Folin Ciocalteu ;
- ✓ Après 3 min additionner à l'abri de la lumière ;
- ✓ Lire la DO a 760 nm ;
- ✓ Réaliser la courbe d'étalonnage.



**Annexe 02 :** Calculs des teneurs des phénols totaux, flavonoïdes, tanins hydrolysables et des tanins condensés de la fleur d'*Opuntia ficus indica*.

Parties étudiées	Densité optique moyenne	Concentration à Partir de l'équation (mg/ml)	Concentration des Phénols totaux (mg/100g)
Phénols totaux	0.2392	0.0846	25.39
Flavonoïdes	2.1613	2.0436	91.48
Tanins totaux	0.43995	4	400
Tanins hydrolysable	4.1165	2.8	280
Tanins condensé	1.0375	0.269	20.69



**Annexe 03 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour l'extrait flavonoïde fraction acétate d'éthyle, C = 3.6mg/ml.**

<b>concentration</b>	2	1.5	1	0.75	0.25
<b>Lecture 700 nm</b>	1.248	1.019	0.529	0.494	0.248

**Annexe 04 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour l'extrait flavonoïde fraction n – butanol, C = 4mg/ml.**

<b>concentration</b>	2	1.5	1	0.75	0.25
<b>Lecture 700 nm</b>	1.248	1.019	0.529	0.494	0.248

**Annexe 05 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour l'extrait flavonoïde fraction éther d'éthylique, C = 9.3 mg/ml.**

<b>concentration</b>	1	0.75	0.5	0.25	0.125
<b>Lecture 700 nm</b>	1.195	0.769	0.576	0.441	0.308

**Annexe 06 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour l'extrait tanins, C = 2mg/ml.**

<b>concentration</b>	1	0.75	0.5	0.25	0.125
<b>Lecture 700 nm</b>	1.195	0.769	0.576	0.441	0.308

**Annexe 07 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour l'extrait polyphénols,  
C = 75mg/ml.**

<b>concentration</b>	1	0.75	0.5	0.25	0.125
<b>Lecture 700 nm</b>	1.195	0.769	0.576	0.441	0.308

Annexe 08 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour l'extrait anthocyanes,

C = 161mg/ml.

<b>concentration</b>	1	0.75	0.5	0.25	0.125
<b>Lecture 700 nm</b>	1.195	0.769	0.576	0.441	0.308

Annexe 09 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour l'extrait flavonoïdes fraction acétate d'éthyle de la fleure d'*Opuntia ficus indica*.

<b>[C] mg/ml</b>	1	0.5	0.3	0.1	0.075	0.05	0.025
<b>DO</b>	0.056	0.133	0.338	0.569	0.615	0.688	0.700
<b>I %</b>	89.83	75.86	54.1	22.74	16.49	6.5	5

Annexe 10 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour l'extrait flavonoïdes fraction n - butanol de la fleure d'*Opuntia ficus indica*.

<b>[C] mg/ml</b>	2	1	0.75	0.5	0.25	0.125	0.075
<b>DO</b>		0.169	0.199	0.365	0.487	0.674	0.692
<b>I %</b>	92.8	78.3	74.45	53.14	37.74	13.47	11.16

Annexe 11 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour l'extrait flavonoïdes fraction éther d'éthylique de la fleure d'*Opuntia ficus indica*.

<b>[C] mg/ml</b>	5	4	3	2	1.5	1	0.5
<b>DO</b>	0.032	0.164	0.209	0.255	0.270	0.323	0.397
<b>I %</b>	95.09	74.88	68	60.94	58.13	49.92	38.44

**Annexe 12 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour l'extrait tanins de la fleure d'*Opuntia ficus indica*.**

<b>[C] mg/ml</b>	2	1.5	1	0.75	0.5	0.25	0.1
<b>DO</b>	0.203	0.392	0.440	0.482	0.502	0.515	0.520
<b>I %</b>	69.97	42.01	34.91	28.69	25.73	23.81	23.07

**Annexe 13 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour l'extrait anthocyanes de la fleure d'*Opuntia ficus indica*.**

<b>[C] mg/ml</b>	4	3	2.5	2	1	0.75	0.5
<b>DO</b>	0.085	0.155	0.337	0.375	0.419	0.549	0.614
<b>I %</b>	87.25	76.76	49.47	43.77	37.18	18.78	7.94

**Annexe 14: Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour l'extrait polyphénols de la fleure d'*Opuntia ficus indica*.**

<b>[C] mg/ml</b>	3.25	3.125	3	2.5	2	1.75	1.5	1
<b>DO</b>	0.0473	0.0421	0.2638	0.2873	0.3592	0.3832	0.4031	0.4048
<b>I %</b>	93	77.13	50.24	45.81	32.25	27.72	23.97	23.65

## Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle. Notre travail vise à faire une étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits de la fleur d'*Opuntia ficus indica*. Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des anthocyanes et des alcaloïdes dans notre fleur. La teneur en phénols totaux est variable. Les extraits des phénols totaux a présenté la teneur la plus élevée (253.9 mg/100g), pour les flavonoïdes, elle est de (91.48 mg/100g), alors que pour les tanins totaux (40 mg/100g), pour les tanins hydrolysables (38 mg/ml) et pour les tanins condensés (1.33 mg/ml). L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par deux méthodes ; la réduction du fer (FRAP) et le piégeage du radical libre DPPH. La capacité de réduction de fer est remarquable dans l'extrait des flavonoïdes fraction acétate d'éthyle (0.075 mg/ml) et qui est supérieure à celle de l'acide ascorbique (0.1 mg/ml). La fraction acétate d'éthyle des fleurs a présenté une activité antioxydante intéressante ( $IC_{50} = 0.41$  mg/ml) et qui est très proche à la capacité du piégeage du radical DPPH de l'acide ascorbique dont ( $IC_{50} = 00.12$  mg/ml).

**Mots clés :** *Opuntia ficus indica*, étude phytochimique, flavonoïdes, tanins, anthocyanes, alcaloïdes, activité antioxydante, FRAP et DPPH.

## Abstract

Much of the interest of current research involves the study of antioxidant molecules of natural origin. Our work aims to study phytochemical and antioxidant activity of extracts of the flower of *Opuntia ficus indica*. The phytochemical tests carried out have led to identification of flavonoids, tannins, anthocyanins and alkaloids in our flower. The total phenolic content is variable. The extract of total tannins presented the highest content (400 mg/100 g), for hydrolyzable tannins, it is (280 mg/100 g), whereas flavonoids (91.48 mg/100g), for phenols (25.39 mg/100g), condensed tannins and (2.33 mg/100g). The antioxidant activity of different extracts was evaluated by two methods; iron reduction and trapping of free radical DPPH. The ability to reduce iron is remarkable in the extract flavonoids fraction and ethyl acetate which is greater than that of ascorbic acid. The ethyl acetate fraction of flowers presented an interesting antioxidant activity ( $IC_{50} = 0.41$  mg / ml) and which is very close to the capacity of trapping of the radical DPPH • with ascorbic acid ( $IC_{50}=00.12$ mg/ml).

**Keywords:** *Opuntia ficus indica*, phytochemical study, flavonoids, tannins, anthocyanins, alkaloids, antioxidant activity, DPPH and FRAP.

## المخلص

الكثير من الاهتمام من البحوث الحالية تشمل على دراسة الجزيئات المضادة للأكسدة ذات الأصل الطبيعي. عملنا يهدف إلى دراسة النباتية والنشاط المضادة للأكسدة من مقتطفات من زهرة بوننتيا إندিকা اللبخ. أجرى اختبارات النباتية خارج أدت إلى تحديد، الانثوسيانين الفلافونويد والعفص وقلويدات في زهرة لدينا. المحتوى الفينولي إجمالي متغير. المستخلص من العفص مجموع قدم على أعلى محتوى (400 mg/100g ز)، للعفص hydrolyzable، فمن (280 mg/100g ز)، في حين أن مركبات الفلافونويد (91,48 mg/100g)، لفينولات (25.39 mg/100g)، مكثف والعفص (2.33 mg/100g). وتم تقييم النشاط المضادة للأكسدة من مقتطفات مختلفة من قبل اثنين من الطرق، والحد من الحديد ومحاصرة من DPPH الجذور الحرة. القدرة على الحد من حديد لافت للنظر في استخراج جزء فلافونيدات وخلات الإيثيل التي هي أكبر من حمض الاسكوربيك. قدم جزء خلالات الإيثيل من الزهور على نشاط مضادات الأكسدة مثيرة للاهتمام ( $IC_{50} = 0.41$  ملغ / مل)، والتي هي قريبة جدا من قدرة محاصرة من DPPH جنري • مع حمض الاسكوربيك ( $IC_{50} = 00.12$  ملغ / مل).

**كلمات البحث:** بوننتيا إندিকা اللبخ، دراسة النباتية، الفلافونويد والعفص، الانثوسيانين، قلويدات، والنشاط المضادة للأكسدة، و DPPH FRAP.