

Master Bio - A1 / 01

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



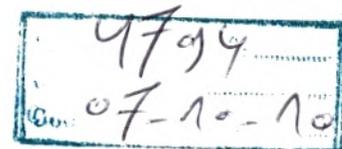
UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences
de la terre et de l'univers
Département de Biologie
Laboratoire de recherche « **Produit Naturel** »

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Biologie

Option :

Sciences des Aliments



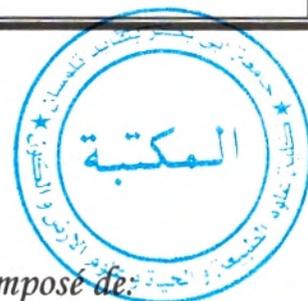
Thème

**Contribution a l'étude phytochimique et l'évaluation
du pouvoir antioxydant des grains du figuier de
barbarie (*Opuntia ficus-indica*) de la région de
Tlemcen**

Présenté par :

M^{lle} BELARBI Fouzia

Soutenu le: 15/07/2010, devant le jury composé de:



Presidente:

Examineur:

Examineur:

Sous la direction:

M^{me} BELARBI. M

M^r BENAMAR. CH

M^{me} BENSALAH. F

M^r BEGHADAD .M.C

Professeur

Chargé de cour

Chargé de cour

Maitre de conférence

Année Universitaire : 2009/2010

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

A dieu tout puissant Allah qui ma donne la volante et la puissance pour réaliser cette étude.

Ma mère, un grand merci, même si ce mot ne suffit pas à rendre tout le bien qu'elle m'a fait et qu'elle continue à m'apporter ;

Mes sœurs : Rabia, Malika, Naima.

Leurs conjoints : Nouraddine, Ahmed, Bouziane.

Mes frères : Rabah, et Mohammed.

Et leur épouse : Zakia, Rachida.

Mes nièces : Souad, Amina, Amira, Nawel, Assia, Chahrazed, Dounia, Bouhra, Rihab, Hadil, Wissal et Nour.

Mes vœux : Mustafa, Younes et Mohammed.

Et toute la famille Belarbi sans exception.

Mes amies : Faiza, Salima, Karim², Ilhem, Fouzia, Samira, Amina, Meryem, Asma, Houria, Tima, Rabima, Sarra, Nawel, AmeL, Sid Ahmed, Amine, Soufyan.....,

En fin à toute la promotion de Master (2009-2010), surtout promotion science des aliments.

Mes collègues dans le laboratoire de recherche « produit naturel »

Tous mes professeur du primaire jusqu'au niveau universitaire.

Et tous ceux qui ont un jour compté dans ma vie

Remerciements

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) du Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, sous la direction de M^r BEGHADAD Mohammed Choukri

Tous nos remerciements à M^r BEGHADAD Choukri, Maître de Conférences au Département de Médecine, Faculté de Médecine, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, qui nous a fait l'honneur de diriger ce travail.

Nous remercions M^{me} BELARBI Meriem, Professeur au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, d'avoir accepté de présider ce jury et pour nous avoir permis de réaliser des analyses au sein de son équipe.

Nous adressons nos remerciements à M^r BENAMAR Ch, Maître assistance de classe A au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous remercions également M^m BENSALAH F, Maitre assistance de classe A au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, d'avoir participé à ce jury.

Pour n'oublier personne, je vais adresser un grand merci collégial pour leur générosité quotidienne.

Enfin, nous voulons exprimer nos vifs remerciements à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la mise en œuvre de ce mémoire.

RESUMES

الخلاصة

شجرة التين البربرية (صبار الفكس/إينديك) وفيرة جداً في الأراضي الجزائرية، وتستهلك ثمارها من طرف السكان المحليين. قوي غالباً كغلاق للأراضي العشبية قبل البشر منذ آلاف السنين.

وهذا النبات تستخدم جميع مكوناته للأغراض الغذائية والطبية. الفواكه فيها عدد كبير من البذور التي تحتوي على ما يقرب من 7,26% الدهني المستخرجة بواسطة الأسلوب سوكلهيت. وتقدر كثافة زيت هذه بذور ب 0,896، مقياس الحمض 2.24، معامل الانكسار 1,462 ومؤشر تصبن 190,77.

المعايير الكمية من مركبات البوليفينولات لبذور التين البربرية قدرت مستوياتها ب 270 ملغ/100 غرام من مجاميع بوليفينولات الكلية و 224 ملغ/100 غرام من الفلافنويد.

يمكن تقييم القدرة المضادة للأكسدة بواسطة دي بي بي إيتش لمستخلصات التين البربرية كالعفص و الفلافنويد و الاكلويد أظهرت قوة هامة وأعربت عن انخفاض تركيز دي بي بي إيتش على التوالي : 90, 62 ميكروغرام/مل، 30,10 ميكروغرام/ 37,12 ميكروغرام/مل.

الكلمات الرئيسية: منطقة تلمسان صبار الفكس/إينديك ، الزيوت، بوليفينول، ومضادات الأكسدة،.

Résumé

Le figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) est très abondant sur le territoire algérien, ses fruits sont consommés par la population locale. L'*Opuntia* est utilisé souvent comme clôture pour les prairies par les humains depuis des milliers d'années.

C'est l'une des plantes où l'on utilise tous ses organes pour des fins nutritionnelles et médicales. Les fruits contiennent de nombreuses graines renfermant près de 7,26 % de lipides qui ont été extrait par la méthode de Soxhlet. L'huile de ces graines a comme indice de densité 0,896, indice d'acide 2,24, indice de réfraction 1,462 et indice de saponification 190,77. Les dosages quantitatifs des composés phénoliques des graines du figuier de barbarie ont révélés des teneurs de 270mg/100g pour les polyphénols totaux et 224mg/100g de flavonoïdes. L'évaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH de l'extrait des tanins et des flavonoïdes de figuier de barbarie a montré un pouvoir important, exprimé par une concentration de réduction de DPPH de l'ordre de 62,90 µg/ml, 30,10 µg/ml, 37,12 µg/ml respectivement.

Mots clés : *Opuntia ficus-indica*, l'huile, polyphénols, pouvoir antioxydant, région de Tlemcen.

Summary

Opuntia ficus-indica, the fig tree of barbarism (*Opuntia ficus-indica*) is very abundant in the Algerian territory; its fruits are consumed by the local population. The *Opuntia* is used often used as closing for grassland by humans for thousands of years.

This is a plant where it uses all its organs for nutritional and medical purposes. Fruits contain many seeds containing nearly 7, 26% of lipids extracted by the Soxhlet method. These seed oil has as density 0,896, index acid 2.24, refractive index 1,462 and index of saponification 190, 77. Fruit mixture quantitative determinations of seeds of the fig tree of barbarity phenolic compounds revealed levels of 270 mg / 100 g to polyphenols totals and 224 mg / 100g of flavonoids. The evaluation of antioxidant activity by DPPH of tannins and flavonoids extract barbarity fig showed an important power expressed by a concentration reduction of DPPH order of de 62,90 $\mu\text{g/ml}$, 30,10 $\mu\text{g/ml}$, 37,12 $\mu\text{g/ml}$ respectively.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*, oil, polyphenols, antioxidant, Tlemcen region.

Tableau de Matière

Avant-propos.....	i
Liste des abréviations.....	iii
Résumés	iv
Sommaire.....	viii
Liste des tableaux.....	xi.
Liste des figures.....	xii
Introduction général	1
Etude bibliographique	4
Chapitre I : généralité sur le Figuier de Barbarie (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	5
Description du figuier de barbarie :.....	6
I. Le figuier de barbarie dans le monde végétal	6
II. Classification	7
III. Biologie de figuier de barbarie.....	8
IV. Exigence écologiques du figuier de barbarie.....	9
a-facteurs édapho-climatiques.....	9
b-Facteurs biotiques.....	9
V. La culture du figuier de barbarie au Algérie.....	10
VI. Importance agro-économique du figuier de barbarie.....	10
a-Utilisation des fruits.....	10
b-Utilisation des raquettes.....	11
❖ Production fourragère :.....	11
❖ Production maraichère	12
❖ Utilisations médicinales	12
c-Utilisation des fleurs	13
d-Utilisation de la graine	13
VII. Composition chimique des graines du figuier de barbarie.....	13
VIII. Huile de figuier de barbarie.....	14
VIII. Les travaux antérieurs.....	15
• Graine.....	15

• Fruits.....	15
• Huile.....	15
Chapitre II : Métabolisme secondaire des graines de Figuier de Barbarie et leurs pouvoirs antioxydants.....	16
I. Introduction.....	17
II. Composés phénoliques ou polyphénols:.....	18
II.1 Les tanins.....	20
II.2 Les flavonoïdes.....	21
II.3 Les alcaloïdes.....	22
III. Pouvoir antioxydant des composés phénoliques.....	23
III.2 Les radicaux libres.....	24
III.3 Origine et des radicaux libres.....	24
III.4 Les antioxydants.....	24
Etudes expérimental	26
Chapitre I : Matériel et Méthode	27
Collecte et stockage.....	28
I. Détermination de la teneur en eau	31
II. Tests phytochimiques	32
III. Extraction sélectives	33
1. Extraction des tanins.....	33
2. Extraction des flavonoïdes	34
3. Extraction des alcaloïdes	34
IV. Dosage des composés phénoliques.....	35
1. Dosage des phénols totaux	35
2. Dosage des tanins condensés.....	36
3. Dosage des tanins hydrolysables.....	36
4. Dosage des flavonoïdes.....	37
V. Méthode d'identification par chromatographie sur couche mince(CCM)	37
VII. Pouvoir antioxydant : piégeage de radical libre DPPH.....	39
VIII. Détermination de la teneur en matière grasse	41
VIII. Détermination des indices physico-chimiques de l'huile.....	42
1.1 Indices physiques	42
a) Indice densité d_{20}	42
b) Indice de réfraction N_d^t	43

1.2 Indices chimiques.....	43
a) Indice d'acide.....	43
b) Indice de saponification.....	44
Chapitre II : Résultats et Discussion.....	46
I. Détermination de la teneur en eau.....	47
II. Métabolisme secondaires.....	47
II.1 Tests phytochimiques.....	48
II.2 Extraction sélectives.....	49
II.3 Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux.....	49
II.4 Dosage des tanins condensés et tanins hydrolysables.....	50
II.5 Dosage des flavonoïdes.....	51
III. Chromatographie sur couche mince des extraits phénoliques (PT,T,F).....	51
IV. Détermination de la teneur en matière grasse.....	53
IV.1 Détermination des indices physico-chimiques.....	53
a- Les indices physiques.....	53
1. Indice de densité.....	53
2. Indice de réfraction N_d^{20}	54
b- Les indices chimiques.....	55
1. Indices d'acide.....	55
2. L'indice de saponification.....	56
V. Estimation de pouvoir antioxydant des extraits des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes de graine du figuier de barbarie.....	57
Collusions générales.....	59

Liste des tableaux

Tableau I.1 : composition du figuier de barbarie opuntia ficus-indica.....	10
Tableau I.2 : comparaison de la composition des cladodes avec autres aliments.....	11
Tableau I.3 : composition chimique de la graine de figuier de barbarie.....	13
Tableaux II.1 : récapitulatif du poids du fruit et pourcentage en graines des fruits.....	28
Tableau II.2 : résultats des tests phytochimique de graine du figuier de barbarie.....	46
Tableau II.3 : taux de polyphénol au niveau de quelque graine végétal.....	48
Tableau II.4 : interprétation des résultats de CCM des extraits de graine de F.B.....	50
Tableau II.5 : indice de densité de quelque huile végétale.....	52
Tableau II.6 : indice de réfraction de quelques huiles végétales.....	53
Tableau II.7 : les indices de saponification des principaux corps gras.....	54
Tableau II.8 . EC ₅₀ et puissance antioxydant (ARP) des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes des graines de figuier de barbarie comparés aux antioxydants standards (Acide ascorbique et Trolox).....	55

Liste des figures

Figure I : Organisation du monde végétal.....	5
Figure I.2 : Photos de l'arbre (A), de la raquette (B), de la fleur (C) et du fruit (D) du figuier de barbarie.....	7
Figure I 3 : Structure de quelques composés phénoliques.....	18
Figure I.4 : Structures des tannins hydrolysables et des acides associés.....	19
Figure I.5 : Structure des tannins condensés.....	20
Figure I.6 : Les diverses classes de flavonoïdes.....	21
Figure I.7: Quelque structure et espèces végétales associées aux différents alcaloïdes.....	22
Figure II.1A: Photo de fruit frais.....	26
Figure II.1B : Photos des graines.....	26
Figure II. 2 : Diagramme de différentes méthodes réalisées sur les graines de figuier de barbarie.....	28
Figure II.3 : Extraction sous reflux.....	29
Figure II 4 : Diagramme des tests phytochimiques réalisés sur la graine du figuier de barbarie.....	31
Figure II.5 : Taux de matière sèche de la graine de Figuier de Barbarie.....	45
Figure II.6 : Rendement massique des composés phénoliques (tanins, flavonoïde, alcaloïde).....	47.
Figure II.7 : Courbe d'étalonnage de polyphénols totaux (voire annexe).	
Figure II.8: Taux des tanins condensés et hydrolysables de la graine de figuier de barbarie.....	48
Figure II.9: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes (voire annexe).	
.Figure II.10: Photos des plaques C.C.M pour les extraits phénoliques (PT, T, F).....	49

Figure II.11a: Pouvoir antioxydant de EA de graine de figuier de barbarie (voire annexe).

Figure II.11b: Pouvoir antioxydant de EF de graine de figuier de barbarie (voire annexe).

Figure II.11c: Pouvoir antioxydant de ET de graine de figuier de barbarie (voire annexe).

Figure II.11d: Activité antioxydant du Trolox (voire annexe).

Figure III1e. Activité antioxydant de l'acide ascorbique (voire annexe).

Liste d'abréviation

% :	Pourcent	FeCl₃ :	Chlorure de fer.
°C :	Degré Celsius	AA :	Activité antioxydant.
μ :	Micro	AlCl₃ :	Chlorure d'aluminium.
cm :	centimètre	DPPH :	Diphényle-1- icrylhydrazyl.
dl :	Décilitre	DO :	Densité optique.
g :	Gramme	FAO :	Food and Agricultural Organisation.
g/dl :	Gramme par Décilitre	HCl :	Acide Chlorhydrique.
g/kg :	Gramme par Kilogramme	H₂O :	Eau distillée.
g/l :	Gramme par Litre	H₂SO₄ :	Acide sulfurique
h :	Heure	I_A :	Indice d'acide.
Kg :	Kilogramme	I₂₀ :	Indice de densité.
l :	Litre	n₂₀^d :	Indice de réfraction.
j :	jour	MeOH :	Méthanol.
M :	Molaire	Na₂CO₃ :	Carbonate de sodium.
m :	Mètre	NaOH :	Hydroxyde de sodium
mg :	Milligramme	NH₄OH :	Hydroxyde d'ammonium.
mg/j :	Milligramme par jour	MgSO₄ :	Sulfate de magnésium
min :	Minute	MS :	Matière sèche
ml :	Millilitre	OMS :	Organisation Mondiale de la Sante.
mmol :	Millimole	ONS :	Organisation National de la Sante.
mmol/l :	Millimole par Litre	PVPP :	Polyvinyle polypyrrolidone.
mol :	Mole	P :	Poids.
μg :	microgramme.	PM :	Poids moléculaire.
μl :	microlitre	Rd :	Rendement.
N :	normalité.	Tol :	Toluène.
nm :	Nanomètre	UV :	Ultra Violet.
T/mn :	Tours par minute	UV VIS :	Ultra Violet Visible.
UI :	Unité Internationale		

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale :

Plusieurs pays, y compris l'Algérie sont soumis depuis plus d'un quart de siècle, à une sévère sécheresse aux conséquences néfastes sur l'agriculture et l'activité économique de ces pays. Cette sécheresse est devenue une donnée structurelle qu'il faudra désormais affronter par l'adaptation de l'agriculture pour devenir moins dépendante des aléas climatiques. C'est l'un des objectifs du concept de développement intégré et durable fixé par les Nations Unies (programme des Nations Unies pour le développement PNUD) en collaboration avec la FAO (Food Agro Organisation) et qui vise l'augmentation des potentialités agricoles de ces zones arides. Parmi les espèces culturales résistantes au stress hydrique et tolérantes aux sols pauvres, le figuier de barbarie excelle. En effet cette plante "miracle" a permis la mise en valeur des terres marginales et des zones arides et semi-arides qui n'étaient pas cultivées jusqu'alors. Son adaptation à divers climats et sols a permis à la plante de répondre efficacement lors qu'elle est utilisée dans la lutte contre l'érosion et la régénération des espèces naturelles. Elle possède en outre une production en biomasse très efficiente.

Des plantations intensives ont vu le jour ces dernières années en Algérie, et une très grande variabilité génétique a été créée au sein du cactus algérien. Cette variabilité pourrait aussi être considérée comme une richesse économique supplémentaire à laquelle il est d'ores et déjà temps d'accorder plus d'importance à l'instar de certains pays comme le Mexique, l'Italie, l'Espagne, l'Afrique du sud, la Tunisie et le Maroc.

D'autant plus que cette culture est prodigieuse son extension remarquable et son intégration dans les programmes de développement devraient être accompagnée d'une réflexion sur les possibilités de sa transformation en vue de diversifier les débouchés et de valoriser la production. **(Boullard, 1988)**

Le développement de nouveaux débouchés, en marge des dérivés traditionnels, revêt donc une importance croissante en particulier pour son fruit « figuier de barbarie ».

Actuellement, des boissons alcoolisées, des nectars, des jus, des confitures etc..... sont élaborés à partir de la pulpe de figuier de barbarie. Leur préparation entraîne une production importante de son produit qu'il faut essayer de valoriser, à savoir : les graines et font l'objet de ce travail **(Habib et al., 2005)**

Parmi les trois grandes classes de substances organiques que l'on rencontre dans le monde végétal, protéines, lipides et hydrate de carbone, il existe dans ce cadre des travaux qui ont été réalisés sur les graines de figuier de barbarie

Pour cela afin de valoriser les graines du figuier de barbarie ainsi que ses huiles, dans un 1^{er} temps un dosage de quelques métabolites II^{air} de ces graines ainsi que l'évaluation de leurs pouvoir antioxydant a été réalisé, ensuite l'extraction de l'huile de nos graines et le calcul de ses indices physico-chimiques ont été déterminés.

Notre travail est constitué de trois parties :

- une étude bibliographie qui portera sur la connaissance de quelques aspects du figuier de barbarie ainsi que ses métabolites secondaires.
- dans la deuxième partie les différentes techniques réalisées sont illustrées.
- Enfin, une extraction d'huile de graine de figuier de barbarie et ces indices physico-chimiques sont déterminés.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

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

Description du figuier de barbarie :

I. Le figuier de barbarie dans le monde végétal :

Le règne végétal, de par sa richesse et sa diversité, peut être classé en deux grandes catégories (Figure I.1) : les plantes vasculaires et les plantes non vasculaires. Les plantes vasculaires peuvent être à leur tour, subdivisées en deux grands groupes : les cryptogames vasculaires (plantes sans fleurs) et les phanérogames (plantes à fleurs). Dans les phanérogames on distingue deux classes : les plantes gymnospermes (à graines nues comme le ginkgo, les conifères, etc.) et les angiospermes (à graines renfermées dans un fruit) (Boullard, 1988).

Les angiospermes regroupent la majeure partie des plantes, soit environ 250 000 espèces répandues sur toute la terre, mais peu abondantes en milieu aquatique. Elles se divisent en monocotylédones (céréales, plantes bulbeuses, palmiers, orchidées, etc.) et dicotylédones, de loin les plus nombreuses, comprenant les arbres feuillus et la plupart des plantes potagères et industrielles (Guignard, 1993).

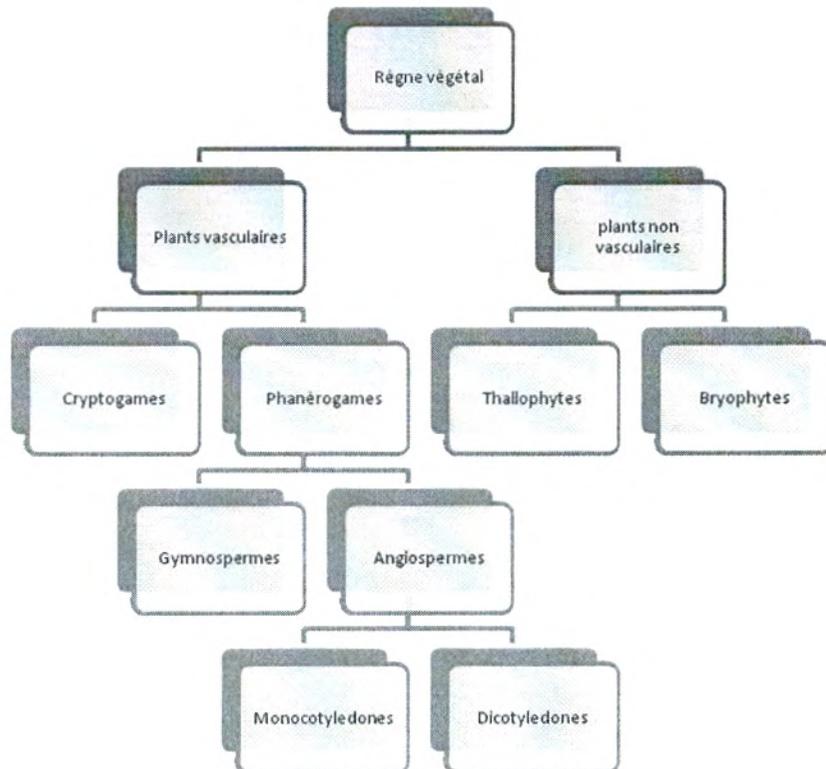


Figure I.1 : Organisation du monde végétal (Guignard, 1993).

II. Classification : (Wallace et Gileson, 1997)

Règne..... Végétal (plantes vasculaire)
 Embranchement..... Phanérogames
 Sous-embranchement..... Angiospermes
 Classe..... Dicotylédones
 Sous-classe..... Dialypétales
 Ordre..... Caryophyllacées
 Famille..... Cactacée
 Genre..... *Opuntia*
 Espèce..... *Opuntia ficus-indica*

Les cactacées sont des angiospermes dicotylédones, dialypétales, caliciflores de l'ordre de caryophyllacées (Wallace et Gileson, 1997). Elles font partie des plantes xérophytes et succulentes. Les xérophytes sont des plantes qui ont réussi à développer une aptitude à se contenter de peu d'eau et qui peuvent donc survivre à de très longue périodes de sécheresse, telles que celles que l'on rencontre dans les régions arides et pridésertique. Ces adaptations se présentent sous diverses formes morphologiques et physiologiques. L'une d'entre elles réside dans la faculté d'emmagasiner de l'eau dans des tissus végétatifs qui prennent un aspect spongieux. Ce phénomène est appelé "succulence" (succus = sève).les cactacées se distinguent des autres plantes succulentes par l'absence de latex lors d'une blessure (Salgado et Mauseth, 1997).

Le genre *Opuntia* est le plus important et le plus répandu de la famille des cactacées. Il comprend environ 300 espèces réparties en quatre sous-genres, dont trois sont largement présents au Algérie (Salgado et Mauseth, 1997).

- *Brasiliopuntia* : tronc non articulé, articles cylindriques et aplatis (une seul espèce en Algérie ; *Opuntia brasiliensis*).
- *Cylindropuntia* : articles cylindriques portant des épines.
- *Platyopuntia* : articles aplatis en raquettes feuilles petites et caduques, épines non gainées.

L'*Opuntia ficus-indica*, plus connue sous le non de figuier de barbarie, appartient au dernier sous genre de l'*Opuntia* (Arba, 2000).

III. Biologie de figuier de barbarie :

Le figuier de barbarie est une plante originaire des régions arides et semi-arides du Mexique qui a été introduite en Afrique du Nord au 16^{ème} siècle. C'est une plante robuste qui peut mesurer jusqu'à 5 mètres de hauteur (Figure I.2A), avec un tronc épais et ligneux, ses articles aplatis en forme de raquette appelés cladodes (Figure I.2 B) de couleur vert mat, ayant une longueur de 30 à 50 cm et une largeur de 15 à 30 cm, sont couverts de petites aréoles, d'épines et de glochides blancs. Ces fleurs marginales sur le sommet des cladodes, sont hermaphrodites de couleur jaune et deviennent rougeâtres à l'approche de la sénescence de la plante (Figure I.2C). Ses fruits sont des baies charnues ovoïdes ou piriformes pourvues d'épines (Figure I.2D), ils sont généralement verdâtres ou jaunes à maturité. La pulpe est toujours juteuse, de couleur jaune-orange, rouge ou pourpre, parsemée de nombreuses petites graines. (Sutton *et al.*, 1981).



Figure : A

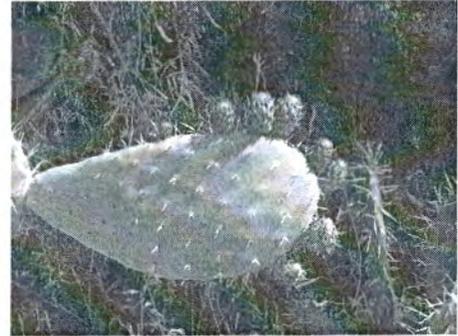


Figure : B



Figure : C



Figure : D

Figure I.2 : Photos de l'arbre (A), de la raquette (B), de la fleur (C) et du fruit (D) du figuier de barbarie.

Sur le plan physiologique, *l'Opuntia ficus-indica* est une plante de type CAM (*Crassulacean Acide Métabolisme*). Elle a la particularité de fixer le dioxyde de carbone et de libérer l'oxygène pendant la nuit et de fermer ses stomates pendant le jour. Ce dispositif permet une

moindre perte d'eau par évapotranspiration pendant les heures les plus chaudes. La pénétration de l'air par les stomates ouverts s'effectue pendant la nuit, et c'est à ce moment, que le dioxyde de carbone est fixé dans les tissus de chloroplaste par le phosphoénolpyruvate, résultant du métabolisme des hydrates de carbone via la glycolyse, pour donner l'oxaloacétate. Cet élément est à son tour transformé en malate pour être stocké dans la vacuole. Pendant le jour, le malate se décompose en pyruvate et libère le dioxyde de carbone et l'eau directement au niveau des tissus chlorophylliens qui s'en servent pour la suite de la photosynthèse selon le cycle de Calvin. C'est une différence fondamentale avec les plantes ordinaire (mésophytes), pour qui la photosynthèse s'effectue le jour à partir du dioxyde de carbone fraîchement importé de l'atmosphère (Sutton *et al.*, 1981 ; Leuttg., 1993).

Traditionnellement, le figuier de barbarie est multiplié végétativement par bouturage de raquettes. Les jeunes plantes peuvent entrer en floraison à partir de la 2^{ème} ou de la 3^{ème} année. La durée et la période du cycle annuel dépendent de la variété et de la zone géographique (Poupon, 1975).

IV. Exigence écologiques du figuier de barbarie :

a-facteurs édapho-climatiques :

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 surtout par les basses températures hivernales, son seuil de tolérance étant de -10°C.

Le cactus s'accommode mal des sols hydro-morphes et asphyxiants. Les sols préférés sont des sols légers, sablonneux-limoneux il s'agit de sols légèrement pauvres en matière organique (0,1-1,8), ayant des pH légèrement acides (5,1-6,7). Pour plusieurs espèces *Opuntia* le pH du sol est un facteur limitant, mais *L'Opuntia ficus-indica* est rencontré même sur des sols calcaires (Nerd *et al.*, 1991).

b-Facteurs biotiques :

De nombreux parasites et maladies sont rencontrés dans le cactus (Helmuth et Granata, 1997) :

- La rouille (*Phyllosticta opuntia*) : urédinée qui se manifeste par de petites taches de couleur jaune-rouille, circulaires, pouvant s'étendre en plaques irrégulières d'un blanc sale ou cendré. Ce sont surtout les raquettes de deux ans qui, une fois attaquées n'émettent que peu de raquette, et finissent par se dessécher. Maladie des zones humides, elle est efficacement combattue par des traitements à base de cuivre et par l'ablation des raquettes parasitées.

- Le mildiou des cactus (*Phytophthora cactorum*) : les symptômes de la maladie se présentent sous forme de cloques soulevant l'épiderme, d'état chlorotique prononcé et de taches brunâtres qui envahissent les fruits et les raquettes. La sensibilité à la maladie est variable en fonction des variétés.
- La cératite (*Ceratits capitata*) : une mouche méditerranéenne des fruits qui peut occasionner des dégâts importants dans les plantations mal entretenues.
- Les cochenilles : bien que généralement polyphages, certaines espèces de cochenilles sont des parasites spécifiques et inféodées à l'espèce *Opuntia*. Certains cultivars inermes de cactées sont résistants aux cochenilles.

V. La culture du figuier de barbarie en Algérie :

A l'exception des zones sahariennes et montagneuses, le figuier de barbarie est largement représenté dans le paysage rural algérien, en plantation plus ou moins régulières, autour des villages ou en hais limitant les parcelles de cultures ou les vergés. Sa répartition géographique est assez vaste puisqu'on le trouve aussi bien dans les régions côtières que dans les régions continentales.

Les espèces *Opuntia* le plus ré pondues au Algérie sont : *Opuntia cylindrica*, *Opuntia mieckleyi*, *Opuntia vulgares*, *Opuntia schumanni*, *Opuntia megacantha*, *Opuntia maxima* et *Opuntia ficus-indica* (Arba, 2000).

VI. Importance agro-économique du figuier de barbarie :

L'adaptation du figuier de barbarie aux conditions désertiques et semi désertiques lui permet de constituer une culture à intérêts écologiques et socio-économiques indéniables. En effet, il constitue un bouclier contre la désertification et l'érosion des sols. Il est également cultivé pour la régénération des terres il ne demande pas de pratique culturales spécialisées ni d'apport de fertilisants. Mais malgré ses attraits naturels, peu d'intérêt à été accordé à cette espèce jusqu'aux années 70, avec le développement des marchés des fruits, exotiques dans plusieurs pays, les efforts se sont multipliés pour en faire, culture industriel, soit en tant que culture fourragère, soit en tant que culture maraichère. La production de fruit reste cependant l'aspect le plus recherché et le plus développé (Hamdi, 1997).

a-Utilisation des fruits :

Les fruits sont en général consommé frais, très rafraichissants et nutritifs. Ils se caractérisent par rapport aux autres fruits par un pH relativement élevé (pH=5.6), totalité des sucres présents dans le fruit est constituée de glucose et de fructose dans un rapport de 18 :1. Ce rapport est considéré comme une spécificité du figuier de barbarie si on le compare à celui des

autres fruits (rapport de 1 :1 dans les oranges par exemple). La teneur totale en acides aminés libres (257 mg/100g) est largement supérieur à la teneur moyenne des autres fruits à l'exception des raisins de table et des agrumes qui contiennent une teneur identique (**Askar et El-Samahy, 1981 ; Stintzing et al., 2001**). Le tableau I.1 représente la composition du figuier de barbarie.

Tableau I.1 : composition du figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica* (**Anonyme, 1993**)

Constituants	Fruit(%)	Pulpe et graine(%)	Pulpe sans graine(%)
Eau	80,0	84,5	83,6
Protéine	1,0	1,3	0,8
Lipides totaux	0,7	1,3	0,3
Glucides disponibles	14,8	8,0	10,8
Fibres brutes	2,3	4,4	3,6

Récemment, dans certains pays (Italie, Mexique, Chili...), le fruit est conditionné industriellement et stabilisé par différentes méthodes (froid, séchage, chaleur) ou transformé en jus, miel (miel de tuna), boisson alcoolisés, confiture, colorant alimentaire (pourpre de barbarie). (**Hamdi, 1997 ; Mohamed et al., 1996 ; Dominguez, 1995**).

b-Utilisation des raquettes :

❖ Production fourragère :

Le cactus est considéré comme une réserve fourragère sur pied ; il peut constituer un appoint alimentaire pour les périodes de transition en été et en automne et lors des années de sécheresse (**Shoop et al. 1977**). En effet, sa production en matière sèche varie de 12 à 16 tonnes/ha en fonction des régions. En terrain irrigué, cette production peut atteindre 30 tonnes/ha ce qui fait du cactus l'espèce la plus productive des zones arides : 1,37 kg/m²/an pour le cactus et 0,71kg/m²/an en moyenne pour d'autres espèce (**De Cortazar et Nobel, 1992**). Une fertilisation azotée et phosphorique améliore sa valeur nutritive et sa productivité en biomasse (**Gonzalez, 1989**).

Cependant ce fourrage est pauvre en protéines et en lipides. Il présente un rapport calcium/phosphore élevé et il est riche en glucides, en eau et en vitamines. il ainsi une valeur

fourragère moyenne de 0,06 à 0,08 UF*/kg (unité fourragère = 1820cal) de raquettes (**Shoop et al., 1977 ; Russel et Felker, 1985**). Le tableau I.2 représente la comparaison de la composition des différents cladodes avec d'autres aliments.

Tableau I.2 : comparaison de la composition des cladodes avec d'autres aliments (**Poupon, 1975**)

Nature du fourrage	Matières sèche (%)	Matières azotée (%)	Hydrate de carbone (%)	Matières grasse (%)
Foin de luzerne	91,4	10,6	39,0	0,9
Atriplex	27,3	2,8	5,9	0,1
Mais ensilé	25,3	1,1	15,0	0,7
Pulpe de betterave sucrière		0,2	6,4	0,1
<i>Cladodes de l'Opuntia</i>	10,4	0,6	5,8	0,1

❖ Production maraichère :

Les jeunes pousses d'*Opuntia* appelées "*Nopalitos*" sont consommées comme légume au Mexique et dans le sud des Etats-Unis. Elles sont riches en vitamine C et en calcium et leur valeur nutritive est proche de celle de la laitue et des épinards (**Mohamed et al., 1996 ; Saenz, 2002**).

❖ Utilisations médicinales :

En Australie et en Afrique du Sud, l'effet hypoglycémique des "*Nopalitos*" est utilisé dans le traitement des diabètes non dépendants de l'insuline. Le mucilage isolé des raquettes permet de réduire le cholestérol total dans le sang. Les femelles des cochenilles *dactylopius coccus costa* ou *dactylopius Opuntiae cockerell*, qui prolifèrent sur des raquettes de l'*Opuntia ficus-indica*, sont utilisées pour la production d'un colorant E-120 très utilisé par les industries alimentaires, cosmétiques et médicinales. Récemment au Mexique et en Afrique du Sud, des producteurs ont adopté des systèmes de production intensifs en micro-tunnels pour la culture de ces cochenilles (**Pimienta, 1993**).

deuxième temps ils ont réalisé un dosage de sucres neutres, ils regroupent les résultats obtenus dans le tableau ci-dessous :

Tableau I 3 : composition chimique de la graine de figuier de barbarie (**Barbera et al., 1994**).

constituants	Pourcentage
Eau	5-6%
Huile	7-8,5%
Minéraux (cendre)	1,3%
Lignine	18%
Protéine	11-12%
cellulose	30%

VIII. Huile de figuier de barbarie :

L'extraction de la fraction volatile des graines en général est réalisée par hydrodistillation pendant un certain temps sur des graines broyées suivie d'une extraction liquide-liquide de l'hydrolysate en utilisant comme solvant l'hexane, chloroforme et l'éther de pétrole. Les extraits obtenus par extraction liquide-liquide après hydrodistillation se présentent sous forme de liquides visqueux de couleur jaune c'est l'huile essentielle (**El Mannoubi et al., 2008**).

A l'exception de quelques travaux réalisés par **Habibi** et collaborateurs (**2005**), **Maataoui** et collaborateurs (**2005**), **El Mannoubi** et collaborateurs (**2008**) sur La composition spécifique de l'huile et son utilisation traditionnelle dans le dessèchement cutané, le vieillissement physiologique de la peau, et le soin capillaire pour les cheveux sec (**Chtouka Ait Baha, 2009**).

VIII. Les travaux antérieurs.

- **Graines**

Des hémicelluloses ont été isolées du résidu dépectiné des parois cellulaires de l'endosperme des graines d'*Opuntia ficus indica* par des extractions alcalines. Deux xylènes ont été purifiés et caractérisés. Leur structure chimique a été déterminée par analyse des sucres et par méthylation ainsi que par RMN 1H et 13C. (Habibi *et al.*, 2005)

- **Fruits**

L'activité anti-oxydante des jus de fruits de figuier de Barbarie a été évaluée, *in vitro*, par le test au Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH). Les résultats obtenus ont montré que les composés phénoliques, flavonoïdes et pigments de types bétalaines, possèdent des activités anti-radicalaires plus importantes que celle de la vitamine C. Les jus bruts présentent des activités plus élevées que celles des composés qui les constituent. Les jus issus des fruits de couleur pourpre possèdent des activités anti-oxydantes plus élevées que ceux issus des fruits de couleur jaune – orange (Maataoui *et al.*, 2005)

- **Huiles**

Les constituants volatils des graines du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) d'origine tunisienne ont été concentrés par hydro distillation, suivie de l'extraction liquide-liquide avec l'hexane, le dichlorométhane et l'éther diéthylique. La composition des extraits a été analysée par CPG et CPG-SMHR. Les trois extraits ont montré une composition chimique variée et différente selon le solvant d'extraction. Quarante trois constituants ont été identifiés dans l'extrait à l'hexane, Quarante sept constituants ont été identifiés dans l'extrait au dichlorométhane et Quarante cinq constituants ont été identifiés dans l'extrait à l'éther diéthylique (El Mannoubi *et al.*, 2008).

**Chapitre II : Métabolites
secondaires des graines de
figuier de barbarie et leurs
pouvoirs antioxydants**

I. Introduction :

Les végétaux, qui poussent d'eux-mêmes aux endroits qui leur conviennent le mieux, permettent de disposer d'un éventail considérable de composants alimentaires à savoir : les constituants énergétiques (protéines, lipides, glucides) et les constituants non énergétiques (fibres alimentaires, minéraux, micronutriments). Les métabolites primaires tels que les nucléotides, les lipides acyles, les acides aminés et les acides organiques qu'on peut trouver chez tous les végétaux jouent un rôle métabolique essentiel (**Croteau *et al.* 2000**). Chez les végétaux, les processus qui permettent de synthétiser les composés organiques sont traditionnellement regroupés en métabolisme primaire et secondaire : on parle de métabolisme primaire pour les molécules qui ont des rôles spécifiques et indispensables, et que l'on retrouve de la même façon dans la quasi-totalité des cellules vivantes (**Salunkhe, 1990**).

A côté 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, il faut noter que de par la complexité de leurs structures chimiques et leurs voies de biosynthèses, ces métabolites à savoir notamment les composés phénoliques et les alcaloïdes ont été largement perçus comme biologiquement insignifiants et ont historiquement reçu peu d'attention de la plupart des biologistes. Par contre, les chimistes se sont bien intéressés à ces nouvelles molécules photochimiques et ont largement étudiés leurs propriétés chimiques depuis la seconde moitié du XIX^e siècle (**Croteau *et al.*, 2000**).

Ce n'est qu'à partir de la deuxième moitié du XX^e siècle qu'il y a eu explosion des recherches en ce domaine grâce à l'évolution du matériel d'analyse tels que la chromatographie (HPLC, CPG, CCM...), spectrophotométrie, résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectrographie qui constituent les bases de la chimie organique moderne. De nombreux auteurs ont découvert récemment qu'un bon nombre de ces molécules ont un rôle chez les plantes :

- 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 (antioxydantes) (**Rémésy *et al.*, 1996**).

L'intérêt pour ces produits naturels n'a pas été purement académique mais plutôt il a été 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 a 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**).

II. Composés phénoliques ou polyphénols:

Les composés phénoliques constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols naturels sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction. Ce sont notamment des pigments, des arômes, des tanins astringents, voire des composés sans couleur, sans odeur et sans saveur. On sait aujourd'hui qu'ils ne sont pas si secondaires que cela et qu'ils contribuent à protéger la plante contre les pathogènes, champignons de pourriture, rayonnement UV... Ces composés de structures chimiques extrêmement variées (Figure II 3), sont souvent propres à une espèce ou à un groupe d'espèces et participe à l'identité chimique de la plante (**Scalbert et Williamson, 2000**).

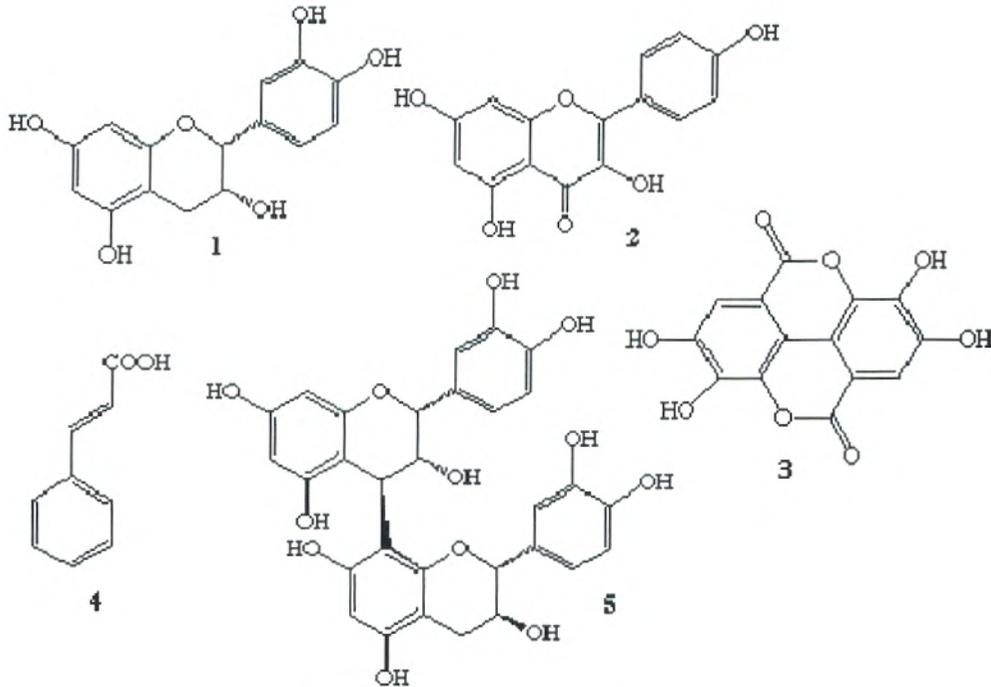


Figure I 3. Structure de quelques composés phénoliques (Lugasi et al., 2003).

Les fonctions des polyphénols au sein des plantes et de leur environnement sont multiples et pas toujours bien connues. **Haslam (1966)** les assimile plutôt aux tanins, composés phénoliques de haut poids moléculaire utilisés dans l'industrie du cuir, également responsables de l'astringence de certains aliments.

Les polyphénols végétaux ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les pathogènes ou le rayonnement UV. Souvent présents en grande quantité dans les plantes consommées par les herbivores, ils limitent leur appétence et digestibilité. Ils ont donc été pendant longtemps considérés comme des facteurs antinutritionnels. C'est un regard tout à fait différent qu'on leur porte aujourd'hui, après la reconnaissance de leurs propriétés antioxydants et de leurs effets présumés sur la santé. Les polyphénols peuvent être divisés au moins en dix classes différentes selon leur structure chimique de base (**Lugasi et al., 2003**).

Le rôle des polyphénols dans la prévention des maladies cardio-vasculaires et cancers est très étudié. L'ensemble des données scientifiques disponibles aujourd'hui n'a pas encore apporté les preuves définitives des effets protecteurs des polyphénols. Il est difficile de réaliser des études d'intervention analogues à celles réalisées avec la vitamine C compte tenu de la très grande diversité de leurs structures.

II.1 Les tanins :

Les tanins sont des composé phénoliques de structure variée (Figure II 4), de saveur astringente, ayant la propriété de tanner la peau (**Salunkhe, 1990**).

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

- Les tanins hydrolysables qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre d'un nombre variable d'acide phénol (acide gallique).

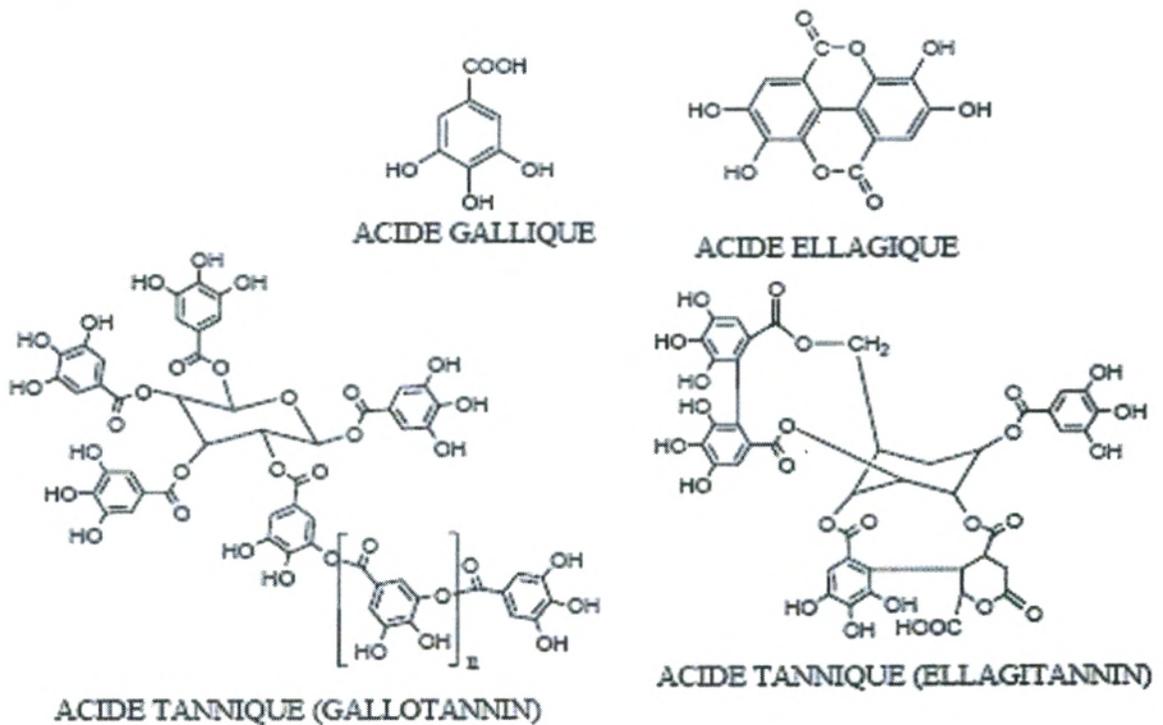


Figure I 4. Structures des tannins hydrolysables et des acides associés (**Salunkhe, 1990**).

- Les tanins condensés ou proanthocyanidols qui se différent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (Figure II 5), il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols (**Bruneton, 1999**)

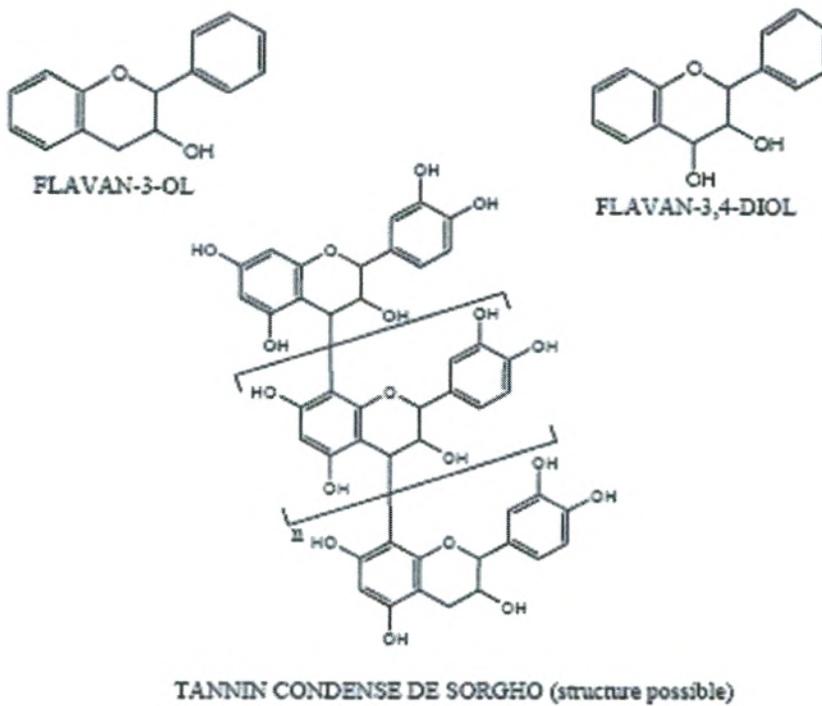


Figure I 5. Structure des tannins condensés (Waghorn et McNabb, 2003).

Les effets des tanins peuvent être résumés en :

- a- Antioxydants:** les tannins ont de grandes capacités anti-oxydantes dues à leurs noyaux phénol. L'efficacité anti-oxydative des polyphénols dépend de leur structure chimique les tannins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois plus efficaces que les phénols simples (**Hagerman et al., 1998**).
- b- Antiparasitaires:** dans les années 90, le développement de résistances aux traitements contre les parasites intestinaux des moutons et des chèvres a conduit à la recherche de méthodes alternatives (**Paolini et al., 2003**).
- c- Antibactériens:** de nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tannins sur différents bactéries, virus et champignons, elles sont décrites en détail ainsi que les différentes espèces de microbes sensibles (**Chung et al., 1998**).

II.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés des pigments quasiment d'origine végétale. Tous les flavonoïdes environ 3000 ont une origine biosynthétique commune et de ce fait, possèdent le même élément structural de base (Figure II 6), à savoir l'enchaînement 2-phénylchromane. Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classe selon le degré d'oxydation du noyau central (**Bruneton, 1999**).

Les flavonoïdes possèdent quelques propriétés telles que :

a-colorant : Les flavonoïdes sont les pigments colorés des fleurs. Par exemple, les couleurs orange, rouges et bleues des légumes, fruits, fleurs et tissus de stockage des plantes sont dues à des anthocyanes hydrosolubles (qui sont des flavonoïdes jaunes réduits).

b- pathogènes : comme dans les symbioses (nodules des légumineuses). Ils agissent dans les systèmes de défense des cellules végétales en réponse à certains stress tels que les radiations ultraviolettes et d'autres agressions externes.

c- inhibiteurs d'enzymes : des agents chélatants des métaux nocifs aux plantes. De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie, la morphogénèse et la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (Di Carlo *et al.*, 1999 ; Pietta, 2000).

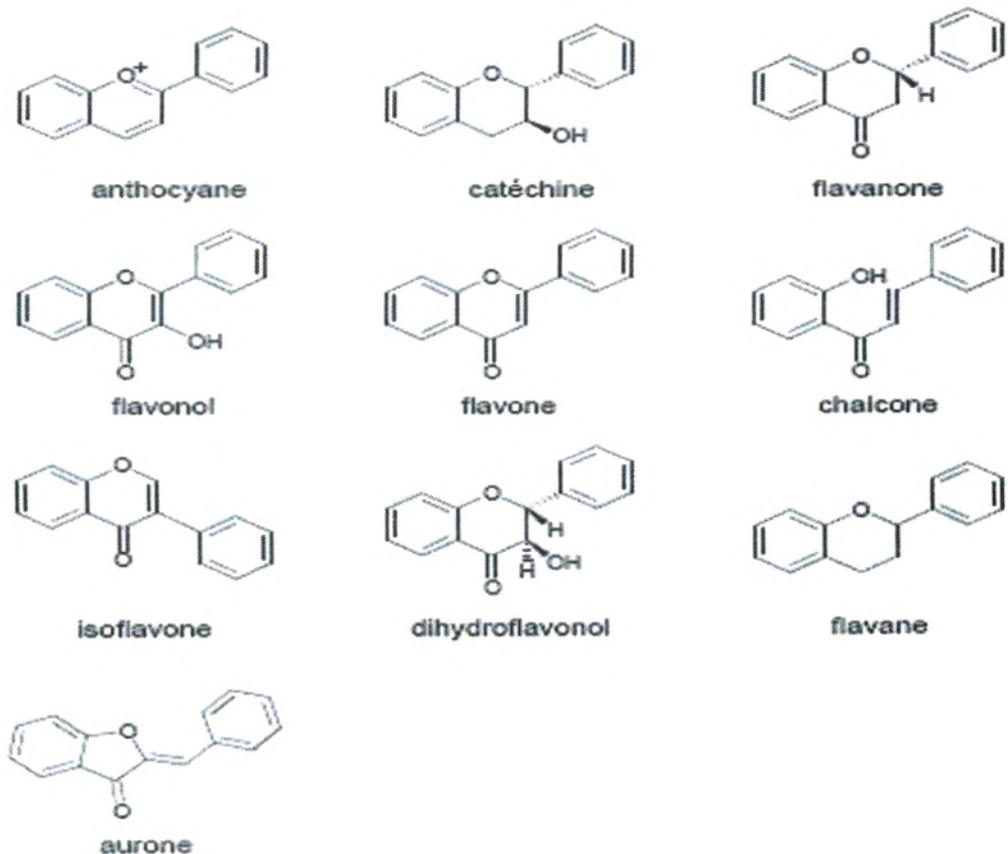


Figure I 6. Les diverses classes de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

II.3 Les alcaloïdes :

Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origines naturelles et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe. Leur atome d'azote inclut

dans un système hétérocyclique. Pour certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal et ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé (Figure II 7). Leur détection est due à la capacité des alcaloïdes de se combiner avec les métaux et les metalloïdes qui constituent les réactifs spécifiques utilisés (Bruneton, 1999).

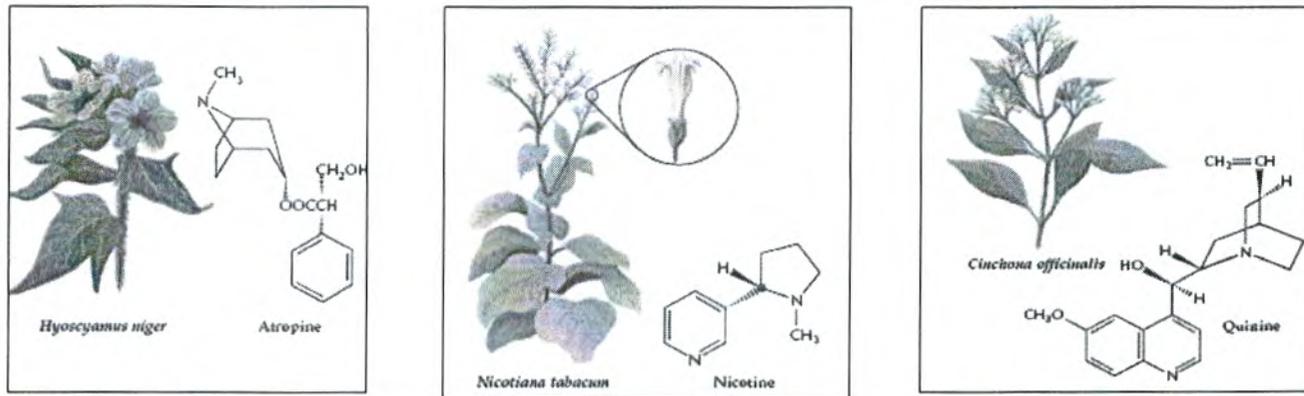


Figure I 7. Quelques structures et espèces végétales associées aux différents alcaloïdes (Croteau *et al.*, 2000).

- Les alcaloïdes vrais : sont initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative
- Les pseudo-alcaloïdes : présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.
- Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés. Diverses substances répondent à cette définition : des amines simples (Sérotonine), mais aussi les bétaines et les bétalaïnes (Bétanine) (Bruneton, 1999)

Comme beaucoup d'autres métabolites secondaires, on ne sait pratiquement rien du rôle des alcaloïdes dans les végétaux. Certains pourraient intervenir dans les relations plantes-prédateurs en protégeant les premières contre l'agression des seconds.

III. Pouvoir antioxydant des composés phénoliques :

La connaissance des activités biologiques et des constituants chimiques des plantes commence par l'identification très précise du matériel végétal suivie d'une recherche chimique approfondie concernant la détermination de structures des différents constituants. Depuis de nombreuses années l'un des soucis majeurs de l'homme est porté sur son vieillissement et sa

santé. Les spécialistes de la santé promulguent une hygiène de vie à suivre afin de protéger son corps contre les agressions extérieures qu'il rencontre incessamment. L'oxygène, notre principale source de vie, peut devenir notre principal ennemi. En effet celui-ci provoque un phénomène d'oxydation, processus qui est impliqué dans le vieillissement de nos cellules et dans certaines maladies comme les maladies cardiovasculaires ou certains cancers. La nature est dotée de composés très utiles à notre bien être, c'est le cas des antioxydants. Appelés également anti-radicaux libres, ils s'opposent à la formation de radicaux libres issus de l'oxydation due au dioxygène et acquiert donc une activité protectrice de notre organisme.

III.2 Les radicaux libres:

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène

- L'anion superoxyde : $O_2 + 1 e^- = O_2^{\cdot-}$
- Le radical hydroxyle : $OH\cdot$
- Le radical peroxyde : $ROO\cdot$
- L'oxygène singulet : O_2 , forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité. (Hadi, 2004).

III.3 Origine et des radicaux libres:

Les radicaux libres 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). La production de radicaux libres par le système immunitaire constitue un outil de protection puissant, mais se révèle dangereuse si elle est non maîtrisée.

II.4 Les antioxydants:

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Boyd *et al.*, 2003), se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant, 2004). Quelque substance ayant une activité antioxydant :

a) polyphénols :

Les activités antioxydantes des tannins et leur rôle dans la prévention de certains cancers ont été passés en revue dans beaucoup d'articles (Almazan et Begum, 1996 ; Vijayakumari *et al.* 1997 ; Bravo, 1998 ; Chung *et al.*, 1998 ; Gupta *et al.*, 2005 ; Odhav *et al.*, 2007).

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I :
Matériels et Méthodes

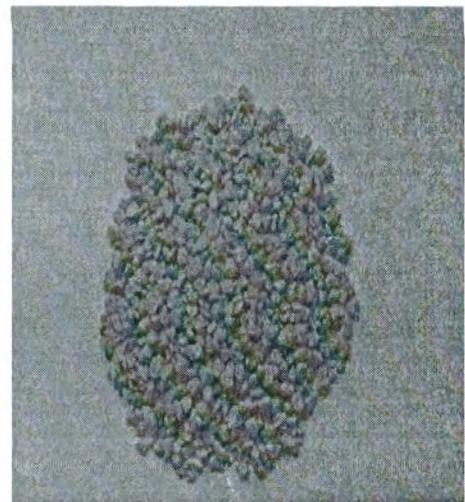
Collecte et stockage :

Les graines utilisées ont été récupérées à partir des fruits du figuier de barbarie issus d'un cultivar pilote à proximité de région de fillaousene (Tlemcen). Ces fruits ont été récoltés en fin de maturité et ils ont été soigneusement sélectionnés. Les fruits, dont le poids oscille entre 80 et 120g, ont été épluchés afin de récupérer la pulpe de fruit. Cette pulpe est parsemée de plusieurs petites graines ('pépins) qui sont empilées de façon assez régulière. La cohésion entre les graines est assurée par le mucilage et les fibres contenus dans la pulpe. Afin d'isoler ces graines, la pulpe a été mixée pendant cinq minutes dans un mixeur, les graines suffisamment dures pour résister à ce mixage, sont facilement séparées du jus après un passage à travers un tamis. Elles ont, par la suite, été lavées abondamment à l'eau puis séchées dans une étuve ventilées et chauffées à 35 C°.



A

Figure II.1A: photo de fruit frais



B

Figure II.1B : photos des graines

Les graines ainsi récupérées sont très dures, de forme plate, plus au moins réniformes ou lenticulaires. Le tableau II.1 regroupe les données sur le poids des fruits et les pourcentages respectifs des graines.

Il a été démontré que le pourcentage et le nombre de graines par fruit varie en fonction de plusieurs facteurs dont la variété, la physiologie et l'environnement de culture.

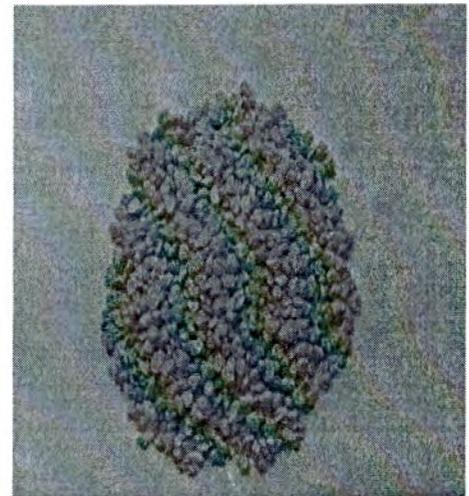
Collecte et stockage :

Les graines utilisées ont été récupérées à partir des fruits du figuier de barbarie issus d'un cultivar pilote à proximité de région de fillaousene (Tlemcen). Ces fruits ont été récoltés en fin de maturité et ils ont été soigneusement sélectionnés. Les fruits, dont le poids oscille entre 80 et 120g, ont été épluchés afin de récupérer la pulpe de fruit. Cette pulpe est parsemée de plusieurs petites graines (pépins) qui sont empilées de façon assez régulière. La cohésion entre les graines est assurée par le mucilage et les fibres contenus dans la pulpe. Afin d'isoler ces graines, la pulpe a été mixée pendant cinq minutes dans un mixeur, les graines suffisamment dures pour résister à ce mixage, sont facilement séparées du jus après un passage à travers un tamis. Elles ont, par la suite, été lavées abondamment à l'eau puis séchées dans une étuve ventilées et chauffées à 35 C°.



A

Figure II.1A: photo de fruit frais



B

Figure II.1B : photos des graines

Les graines ainsi récupérées sont très dures, de forme plate, plus au moins réniformes ou lenticulaires. Le tableau II.1 regroupe les données sur le poids des fruits et les pourcentages respectifs des graines.

Il a été démontré que le pourcentage et le nombre de graines par fruit varie en fonction de plusieurs facteurs dont la variété, la physiologie et l'environnement de culture.

Donc, ce pourcentage des graines par rapport au poids total des fruits peut varier d'un cultivar à l'autre. Pour notre cas, le nombre de graines varie entre 50 et 75 graines par fruit, donc il oscille entre 6 et 8% par rapport au poids des fruits, ce qui correspond à 30-40% par rapport au poids sec des fruits. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Barbara et coll (Barbara et al., 1994)

Tableaux II.1 : Récapitulatif du poids de fruit et pourcentage en graines des fruits :

échantillon	Poids du fruit (g)	Poids sec du fruit (g)	Pourcentage en graines
Lot 1	85,46	15,38	40%
Lot 2	75,25	15,05	33%
Lot 3	75,60	15,12	32%
moyenne	78,77	15,18	35%

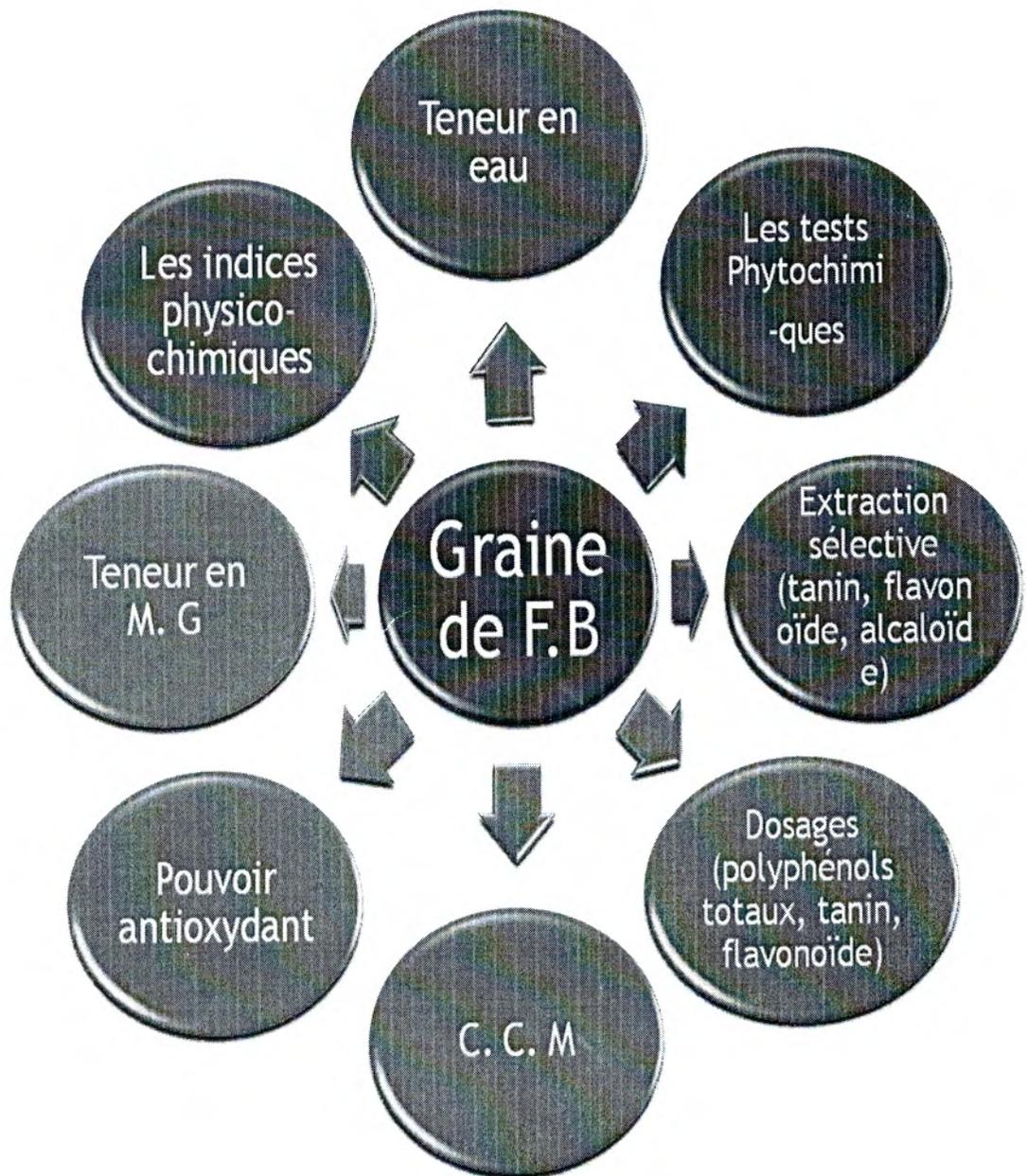
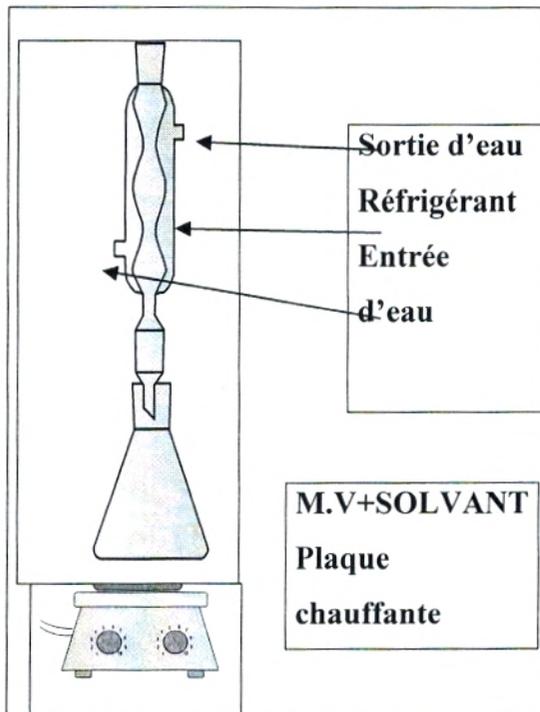


Figure II. 2 : Diagramme de différentes méthodes réalisées sur les graines de figuier de barbarie.

Dégraissage :

50g des graines séchées et brovées



Reflux pdt 10h



Filtrat

Figure II.3 : Extraction sous reflux**I. Détermination de la teneur en eau : (Audigie et al., 1982)****Principe :**

On procède à un dessiccateur de l'échantillon à analyser dans une étuve à 100à105 C°jusqu'à obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placées dans un dessiccateur

Mode opératoire :

Introduire dans chaque vase 2g de l'échantillon frais : c'est le poids P_1

-Placer la vase dans une étuve réglée à 105 C° pendant trois heures.

-Peser l'ensemble et répéter la même opération mais avec in 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 :

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = [(P_2 - P_3) / (P_2 - P_1)] \times 100$$

Dont :

P_1 : masse en g de la vase de tare

P_2 : masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P_3 : masse en g de la prise d'essai après séchage.

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

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

II. Testes phytochimiques :

Principe :

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimique essentiellement les composés phénolique tanins et flavonoïdes, les composés azotés en particulier les alcaloïdes.

La mise en évidence s'effectue par des testes phytochimique réalisés, généralement sur les extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou par macération à froid) ou directement sur la poudre d'échantillon à analyser.

Ils sont basés sur :

-les essais de solubilité des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organique de polarité différente ; l'eau, l'éthanol, l'éther diéthylique.

-réaction de coloration et de précipitation.

Mode opératoire ;

Dans un ballon sarmenté d'un réfrigérant 50g d'échantillon séché à l'air sont séquentiellement extrait a refus et en utilisant les solvants suivants ; eau distillé, l'éthanol, l'éther diéthylique (Figure II.2).les extraits bruts sont filtrés, concentrés, à l'aide d'un rotavapeure, et stoker à 4C° et utiliser pour les analyses ultérieurs (**Trease et Evans, 1987**)

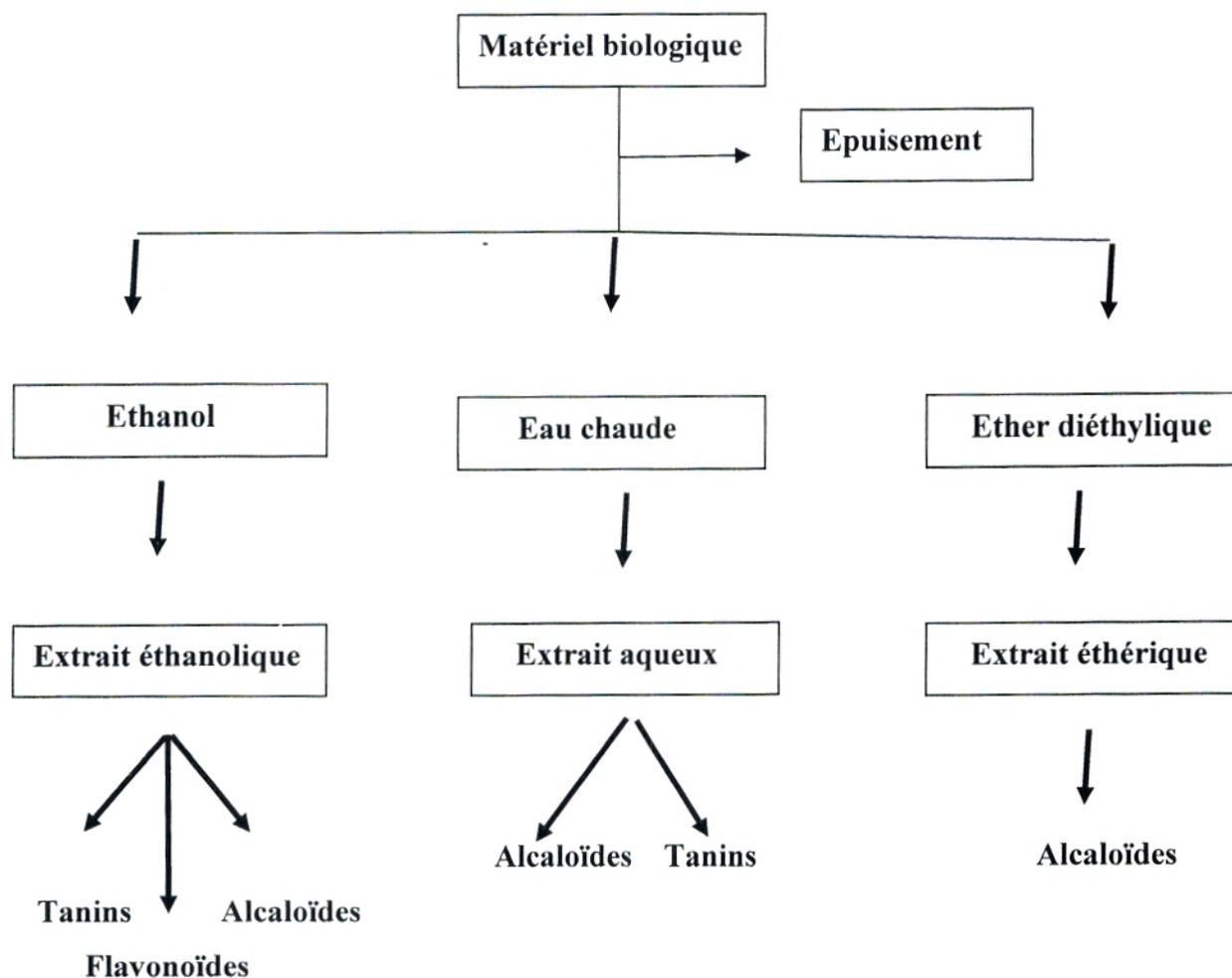


Figure II 4 : Diagramme des tests phytochimiques réalisés sur la graine du figuier de barbarie

III. Extraction sélectives :

1. Extraction des tanins :(Bruneton, 1999) :

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 (4C°) pendant 4 jours.

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

Décanté et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle (AcOEt). sécher la phase organique avec MgSO₄ ensuite faire évaporer le solvant à sec.

Rendement :

$$R (\%) = \frac{P_2 - P_1}{M}$$

P_1 : poids du ballon vide.

P_2 : poids de l'échantillon après l'évaporation.

M : la masse d'échantillon

2. Extraction des flavonoïdes :(Dauguet et Foucher, 1982).

20gde matériel végétal dans 200 ml de méthanol bouillant en présence de 10g de 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, elles sont éliminées par distillation sous pression réduite et le résidu sirupeux est repris par 100 ml d'eau distillée bouillante.

La solution aqueuse est filtrée à chaud et le filtrat épuisé successivement par l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle (AcOEt), et le n-butanol (BuOH) tous les composés flavoniques se retrouvent dans l'extrait.

Rendement :

$$R (\%) = \frac{P_2 - P_1}{M}$$

P_1 : poids du ballon vide.

P_2 : poids de l'échantillon après l'évaporation.

M : la masse d'échantillon

3. Extraction des alcaloïdes :(Bruneton, 1999) :

On mélange 10g de matériel végétale avec 250 ml d'HCl à 2% et 110 ml AcOEt l'ensemble est porté à une macération à froid (4C°) pendant 10h. filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse acide avec NH_4OH . La phase aqueuse basique est ensuite extraite plusieurs fois avec l'AcOEt. L'opération est répétée deux fois avec l'AcOEt, jusqu'à ce que la phase aqueuse ne contienne 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 qu'il peut renfermer par déshydratation sur $MgSO_4$. Faire évaporer le solvant et reste alors un résidu sec des alcaloïdes totaux.

Rendement :

$$R (\%) = \frac{P_2 - P_1}{M}$$

P_1 : poids du ballon vide.

P_2 : poids de l'échantillon après l'évaporation.

M : la masse d'échantillon

IV. Dosage des composés phénoliques

1. Dosage des phénols totaux :

Principe :

Ce dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif. En mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composé phénolique oxydés.

Mode opératoire :

-5 μ l d'extrait sont ajoutés à 1.7 ml de l'eau ensuite 300 μ l de réactif de folin dilué 1/10

-0.5 ml de $NaCO_3$ (20%) ajouté à la solution 1 après 3min.- la solution est incubée dans le bain thermostat à 40C° pendant 30 min.

- les observations sont mesurées à 760 nm par spectrophotomètre (**Folin-Ciocalteu.**)

Extraction :

L'extraction de polyphénols consiste à macérer à froid le tourteau (la poudre dégraissée) de l'échantillon à analyser dans une solution d'acétone aqueuse pendant 24 heures.

L'acétone aqueuse et le méthanol aqueux, avec des proportions entre 70% et 50% (v/v), sont les solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols. L'acétone aqueuse est généralement plus efficace que le méthanol aqueux (**Yu et Dahlgren, 2005**).

Expression des résultats :

La teneur en polyphénols totaux, est déterminée a 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

2. Dosage des tanins condensés (test de la vanilline avec H₂SO₄) : (Swain et Hillis, 1956).

Principe :

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénolique 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 :

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

5.2×10^{-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.

3. Dosage des tanins hydrolysables (au chlorure ferrique) : (Mole et Watrman, 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 (Fe³⁺).

Mode opératoire :

-FeCl₃/HCl le réactif C (Voir Annexe).

-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 :

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

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.

4. Dosage des flavonoïdes : (Djeridane et al., 2006)**Mode opératoire :**

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la méthode de Djeridane et al, 2006.

1 ml de l'extrait brut (acétone/eau) (70/30) est mélangé avec 1 ml d' $AlCl_3$ à 2% après incubation pendant 15 min à T° ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 430 nm.

Expression des résultats :

La teneur en flavonoïde, 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.

V. Méthode d'identification par chromatographie sur couche mince (CCM) : (Macheix et al, 1990).

Après avoir effectué les rendements et les dosages des composés phénoliques chez la poudre de graine de figuier de barbarie, nous sommes passés à l'extraction des polyphénols selon la méthode de **Macheix**.

Pour la séparation nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince qui est un procédé de migration à travers un support solide. Elle repose principalement sur les phénomènes d'absorption et le partage des solutés en deux phases.

- Phase mobile (solvant ou un mélange de solvant)

- Phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

L'échantillon est déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend d'une part de leur poids moléculaire, de leur polarité, etc.... et d'autre part du solvant.

1. Condition opératoire ;

a- Absorbant ;

Dans notre travail nous avons utilisé une plaque de verre en gel de silice est l'absorbant le plus employé dans la séparation des polyphénols.

b- Eluant ;

L'éluant est formé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants.

Pour notre travail nous avons utilisé comme éluant un mélange de solvant ; acétate d'éthyle, méthanol, eau (100/13,5/10 ; v/v/v) (Baghdad, 2009).

c- Cuve de développement ;

La cuve de développement est un récipient en verre quadrangulaire à fond plat, tapissé d'une feuille de papier joseph pour saturer son atmosphère avec la vapeur de solvant. La cuve est remplie de solvants sur une hauteur inférieure à 1 cm.

d- Préparation de chromatographie ;

On trace sur la plaque de gel de silice une ligne de dépôt à 1,5 cm du bord de la plaque et une ligne de front à 1 cm du bord supérieur de la plaque.

e- Développement :

On place notre plaque de couche mince dans la cuve d'une façon perpendiculaire ; la partie inférieure contenant les dépôts doit être trempée dans l'éluant.

2. Méthode de détection :

Pour la révélation et la mise en évidence des constituants séparés, on a utilisé la lampe U.V.

- Calcul du facteur de rétention (Rf) :

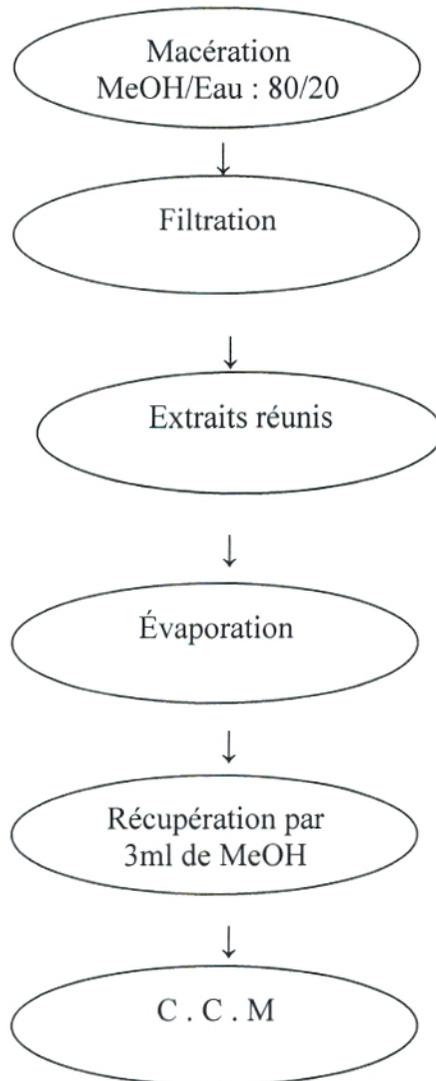
Ce calcul est effectué selon la formule suivante :

$$R_f = d_i/d_s$$

d_i : distance parcourue par le composé (mesurée en centimètres de la tache).

d_s : distance parcourue par le front du solvant.

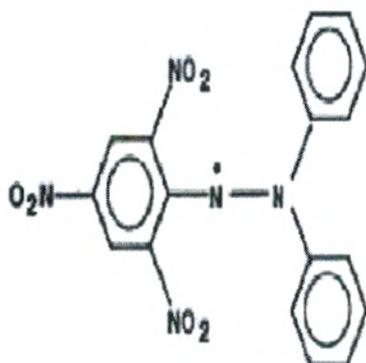
Protocole d'extraction (Macheix *et al.* 2005) : elle se fait selon les étapes suivantes



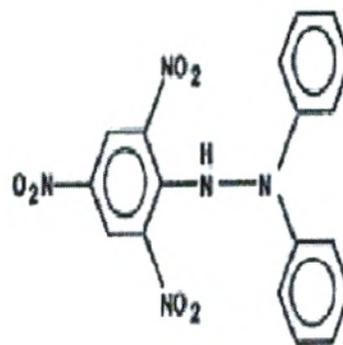
VII. Pouvoir antioxydant : piégeage de radical libre DPPH

-La présence de différents composés antioxydants dans les tissus de la plante rend difficile leurs quantification chacun séparé (Djeridane t al., 2006).

-le radical stable (DPPH) ou diphenylicrylhydrazyl à été généralement utilisé pour la détermination d'une activité antioxydant primaire (Wong et al., 2006).



Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)



Diphenylpicrylhydrazyl (non radical)

Nos extraits méthanoliques ont été testés par la méthode de **Leong et Shui.**, (2006) en utilisant un spectrophotomètre (6405 UV/Vis).

a- Préparation de la solution DPPH :

Une solution méthanoliques de DPPH à 0,1 Mm été préparées.

b- Préparation des dilutions :

Des dilutions dans du méthanol ont été préparées en prenant en considération les deux phases : acétate et n-butanol, pour chaque extraits.

c- Préparation des échantillons :

On a introduit 3 ml de la solution méthanolique du DPPH dans des tubes sec et stériles dans les quels, on a ajouté 40 µl du méthanol absolu.

d- Préparation des essais à blanc :

Pour calibrer l'appareil (U.V-Vis.spectrophotomètre), on préparé un blanc pour chaque dilution, contenant 3 ml du méthanol absolu additionné de 40 µl de la solution test (dilution).

Après agitation par un vortex, les tubes ont été placés dans l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes. Une mesure de l'absorbance à été effectuée à 515 nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance à été mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon.

e- Expression des résultats :

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante.

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

Abs_c : absorbance mesuré du control.

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 EC₅₀ 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 Willians et al. 1995**).

$$\text{ARP} = 1/ \text{EC}_{50}.$$

ARP : puissance radicalaire.

EC₅₀ : concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initial du radical DPPH.

VIII. Détermination de la teneur en matière grasse (ISO 659,1988).

L'extraction par solvant organique spécifique pour la détermination du taux de la matière grasse (n-hexane) est réalisée dans un appareil de type Soxhlet. Cette technique assure une extraction à chaud des matières grasses contenues dans un échantillon végétal solide placé dans un cartouche de cellulose et imbibé continuellement par les vapeurs d'un solvant choisi. En fonction de la polarité des principes actifs lipidiques à extraire. Elle a été effectuée selon la méthode ISO 659-1988.

Environ 10g de l'échantillon broyé de la granulométrie inférieure à 0.5 mm sont pesés dans le tube en cellulose fermé par du coton cardé, et introduit dans un Soxhlet. L'extraction est réalisée par du n-hexane (300 ml) porté à reflux pendant 8 h (répartie en 4h+2h+2h) le solvant est ensuite éliminée sous pression réduite à 45C°. Le taux de la matière grasse est calculé par deux méthodes.

Méthode directe :

$$\text{MG (\%)} = \frac{P_2 - P_1}{M}$$

P₁ : poids du ballon vide.

P₂ : poids du ballon après l'évaporation.

M : masse de la prise d'essai.

MG : taux de matière grasse.

Méthode indirecte :

$$MG (\%) = \frac{P_1 - P_2}{M}$$

P₁ : poids du cartouche avant l'extraction.

P₂ : poids du cartouche après l'extraction.

M : masse de la prise d'essai.

MG : taux de matière grasse.

1. Détermination des indices physico-chimiques de l'huile :

Après l'évaluation de la matière grasse des graines de figuier de barbarie nous avons préférés déterminer les différents indices physico-chimiques de l'huile de figuier de barbarie.

1.1 Indices physiques :

a) Indice densité d₂₀

• Principe :

Elle consiste à déterminer le rapport de la masse d'un volume donné d'huile à 20C° et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température en utilisant un pycnomètre muni d'un thermomètre gradué et étalonner à 20C°

• Mode opératoire (Codex alimentaire, 1978) :

Nettoyer soigneusement le pycnomètre par l'éthanol puis par l'acétone et le sécher en faisant passer un courant d'air sec si nécessaire.

-déterminer la masse **m0** du pycnomètre vide.

- peser 2g d'eau distillée et laisser 30 min dans un bain marie à 20C°

- déterminer la masse **m1** du pycnomètre rempli d'eau distillée.

- nettoyer et sécher le pycnomètre.

-peser 2g d'huile et laisser 30 min dans un bain marie à 20C°

-déterminer la masse **m2** du pycnomètre remplie d'huile.

- **Expression des résultats :**

La densité relative d_{20} est donnée par la formule suivante :

$$d_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

b) Indice de réfraction N_d^t :

- **Principe :**

Il consiste à déterminer le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile à la température constante (20°C), en utilisant le réfractomètre.

- **Mode opératoire (Wolff, 1968)**

-nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant du papier Joseph

-étalonner l'appareil par de l'eau distillée dont l'indice de réfraction est égale à +1.33.

-nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant du papier Joseph.

-Déposer quelques gouttes d'huile dans la lame du réfractomètre et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié et effectuer la lecture des résultats en tenant compte de la température ambiante.

-nettoyer la lame du réfractomètre en utiliser toujours du papier Joseph.

- **Expression des résultats :**

L'indice de réfraction est donné par la formule suivante :

$$N_d^{20} = n_d^t + 0.00035 (t-20)$$

n_d^t : valeur de lecture à la température à laquelle a été effectuée la détermination.

n_d^{20} : indice de réfraction à la température 20°C.

t : la température à laquelle a été effectuée la détermination.

1.2 Indices chimiques.

a) Indice d'acide IA :

- **Principe :**

Il consiste à déterminer le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser l'acidité due aux acides gras libres contenus dans 1 gramme de corps gras

- **Mode opératoire (Codex alimentaire, 1978) :**

L'acidité est déterminée par la méthode titrimétrique en utilisant une solution d'hydroxyde de potassium éthanolique à 0.1 N.

-peser 0.5g d'huile.

-les dissoudre dans 20ml d'éthanol ou de mélange éthanol/ n-butanol (v/v).

-mettre d'autre part dans un récipient témoin la même quantité du même solvant.

Ajouter 03 gouttes de la solution éthanolique de phénolphtaléine à 1% dans chaque récipient (échantillon et témoin).

-titrer chaque essai par une solution de potasse alcoolique à 0.1N.expression des résultats :

$$IA = (V_1 - V_0) \times M \times N \times f / m$$

V_1 : volume en ml de potasse alcoolique utilisé pour neutraliser les acides libres de la prise d'essai.

V_0 : volume en ml de potasse alcoolique utilisé pour le témoin.

M : masse molaire de KOH 56.11g/mole.

N : normalité de la solution de potasse : 0.1 N.

f : facteur de correction de la normalité de la solution de potasse.

m : masse de la prise d'essai.

- b) Indice de saponification I_s :**

- **Principe :**

Il consiste à déterminer le nombre de milligramme de potasse pour former 1 gramme d'ester (Lion, 1955).

- **Mode opératoire (Codex alimentaire, 1978):**

-Prendre 02 ballon à fond plat de 250 ml.

-dans l'un peser 0.5g à 1 g d'huile. Ajouter 10 ml de la potasse alcoolique 0.5 N.

- dans l'autre, qui servira de témoin, placer seulement 10 ml de la même solution de potasse mesurée exactement (à la pipette).

-fermer chaque récipient avec un bouchon muni d'un long tube de verre et chauffer sur le même bain marie 30 minutes.

-laisser refroidir et ajouter dans chaque récipient 20 ml d'eau. Si la solution qui contient l'ester se trouble, c'est qu'il reste de l'ester non saponifier (l'ester est en effet soluble dans l'eau).

-ajouter exactement (avec la pipette) 10 ml de potasse alcoolique à 0.5N dans chaque récipient et remettre une demi-heure au bain marie.

-laisser refroidir et ajouter à titre de sécurité 2 ml d'eau distillée dans chaque récipient.

-si le contenu du récipient ne se trouble plus par addition d'eau. Ajouter 03 gouttes de phénolphaléine.

-titrer par HCl à 0.5N.

- **Expression des résultats :**

L'indice de saponification est donné par la formule suivante.

$$I_s = (V_0 - V_1) \times M \times N \times f/m$$

V_0 : volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique HCl à 0.5 N utilisé pour le témoin.

V_1 : volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique HCl à 0.5 N utilisé pour la prise d'essai.

M: masse molaire de KOH 56.11g/mole.

N : normalité de la solution de potasse : 0.5 N.

f : facteur de correction de la normalité de la solution de potasse.

m : masse de la prise d'essai.

c) Indice d'ester I_E :

L'indice d'ester consiste en la différence de deux indice I_A et I_s . (Lion, 1955).

$$I_E = I_s - I_A$$

Chapitre : II

Résultats et Discussion

I. 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.

L'analyse du taux d'humidité au niveau de la graine du figuier de barbarie à montre une très faible proportion estimée à 5,36 % a partir de cette valeur on a pu déterminer le pourcentage en matière sèche (MS) qui s'est révélé important 64,64 %.(Figure II.5).

Ce résultat est en accord avec celui trouvé par **Barbara et coll. (1994)** estimée entre 5-6% pour la graine de figuier de barbarie, cette faible quantité en eau généralement attribuée au facteur de variété et au période de récolte aussi à la condition de stockage.

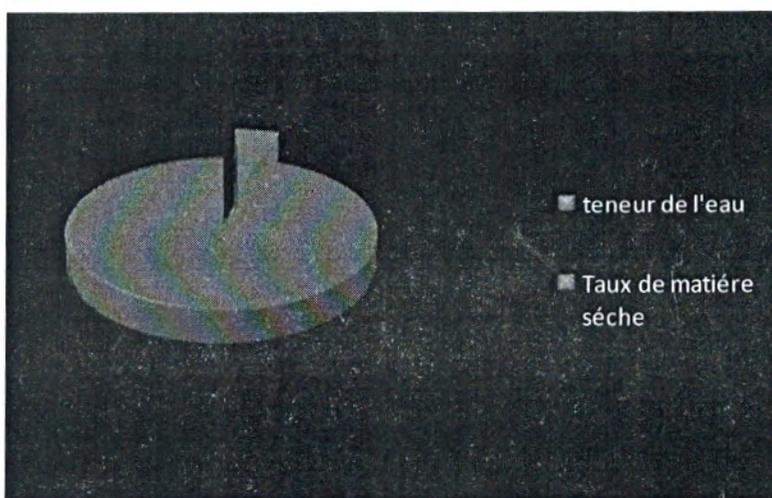


Figure II.5: Taux de matière sèche de la graine de Figuier de Barbarie

II. Métabolites secondaires :

Avant de calculer les rendements des métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes), on doit tout d'abord vérifier leur présence au sein de notre échantillon.

Pour cela nous avons utilisé des tests simples, utilisant des solvants de polarité différente. C'est l'apparition d'une coloration, d'une précipitation ou encore d'une floculation par l'intermédiaire de certains réactifs spécifiques qui va affirmer la présence et / ou l'absence des différentes familles des métabolites secondaires existant dans la graine.

II.1 Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques réalisés sur les graines de figuier de barbarie nous a permis de détecter les différentes familles de composé par des réactions qualitatives de caractérisation.

Ces dernières présentent quatre possibilités ;

- (+) : est enregistré si le réactif présente une légère opacité (présence en faible quantité).
- (+ +) : est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation (présence en quantité moyenne).
- (+ + +) : est enregistré si le réactif produit une floculation ou une précipité lourd (présence en forte quantité).
- (-) : est enregistré en cas d'absence de turbidité de floculation et de précipitation (absence).

-Le tableau suivant montre les résultats des tests phytochimiques obtenus pour les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes de la graine de fruit du figuier de barbarie

Tableau II.2: résultats des tests phytochimique de graine du figuier de barbarie.

Groupe	Eau	Ethanol	Ether Diéthylique
Tanin	++	++	-
Flavonoïde	-	++	-
alcaloïde	+++	+++	+++

Ces tests nous révélés que les tanins et les flavonoïdes sont présents en quantité moyenne alors que les alcaloïdes sont présents en grandes quantité.

II.2 Extractions sélectives :

L'étude phytochimique sur la poudre de graine du figuier de barbarie nous a permis de noter la présence de quelques familles de composés phénoliques comme les tanins et les flavonoïdes ainsi que les alcaloïdes. Ceci nous a incités à calculer leur rendement massique par une extraction sélective.

Les résultats obtenus par l'extraction des tanins, flavonoïdes et alcaloïdes par rapport à la matière sèche dégraissée sont donnés dans la Figure II.7 suivante :

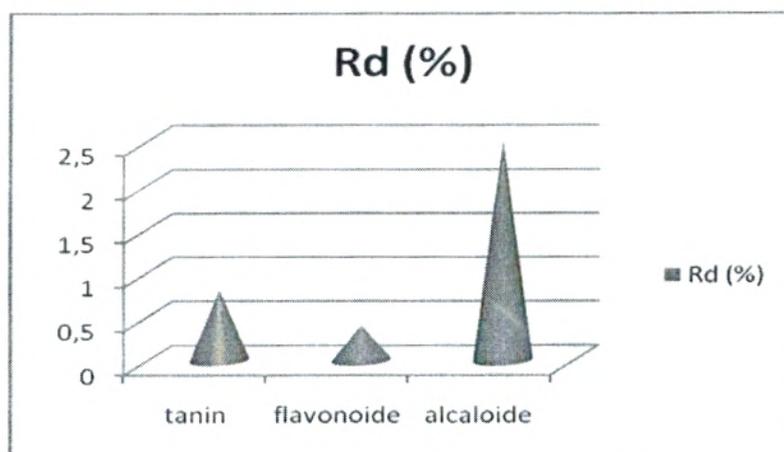


Figure II.6 : Rendement massique des tanins, flavonoïdes et alcaloïdes des graines de figuier de barbarie par rapport à la MS..

A la lumière de ces résultats nous pouvons constater que le rendement le plus élevé des graines de figuier de barbarie se situe au niveau des alcaloïdes (2,5 %) suivent les tanins (0,8 %) et les flavonoïdes (0,4 %).

II.3 Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux.

Après extrapolation des résultats de la D.O. sur la courbe d'étalonnage, la teneur en phénols totaux de notre échantillon est estimée à 270 mg/100g

D'après le tableau II.3 nos résultat est légèrement inférieur par rapport à celui des graines d'arganier et nettement supérieur à celui des graines d'olivier.

Tableau II.3: Taux des polyphénols au niveau de quelques graines végétales.

La graine	Taux de polyphénols en mg /100g de Ms	Références
Figuier de barbarie	270	Travail personnel
Argania spinosa	379	Khaldi, 2007
L'olivier	83,8	Meziane-Medjdoub, 2010

Selon, **Macheix** et ses collaborateurs (1990), la concentration des polyphénols varie d'une espèce à une autre durant le stockage par les différentes voies de brunissement.

II.4 Dosage des tanins condensés et tanins hydrolysables :

La confirmation de la présence des tanins par les tests phytochimiques nous a conduit à effectuer le dosage des deux groupes de tanins, (condensés et hydrolysables). Les résultats sont présentés dans la Figure II.7.

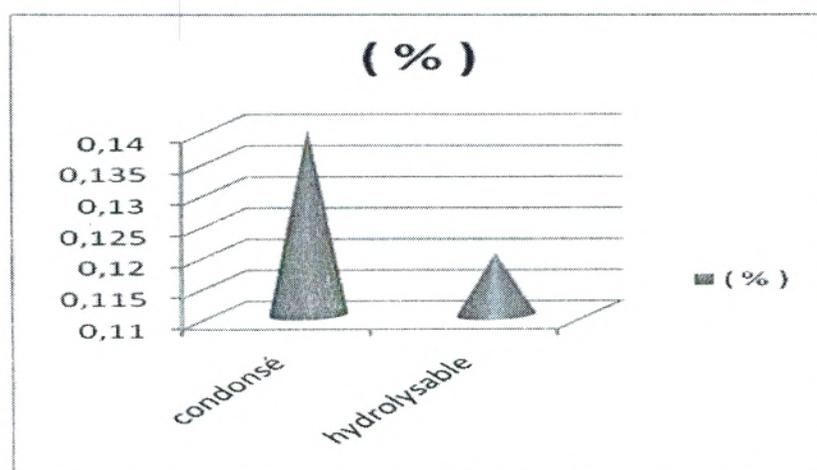


Figure II.8 :: Taux des tanins condensés et hydrolysables en % de la graine de figuier de barbarie par rapport à la MS.

Selon nos résultats nous remarquons que la teneur des tanins condensés est presque identique à celle des tanins hydrolysables avec respectivement 0.14% et 0.12%.

II.5 Dosage des flavonoïdes :

Lorsque nous avons effectué le dosage quantitatif des flavonoïdes on obtenu une valeur de 224 mg /100g ce qui signifie que la quantité des flavonoïdes est très élevée au niveau des graines du figuier de barbarie est constituée la majorité des polyphénols totaux (270 mg/100g) au niveau de notre graine.

III. analyse chromatographique sur couche mince des extraits phénoliques des graines du figuier de barbarie :

La chromatographie sur couche mince nous a permis d'identifier quelques groupes de composés phénoliques présents dans les graines de figuier de barbarie.

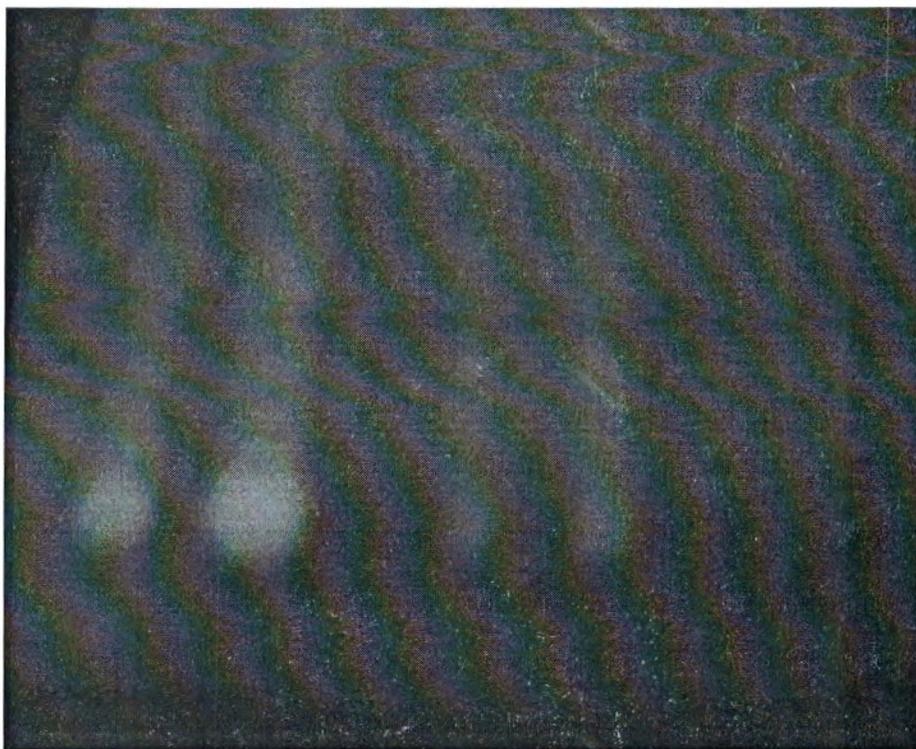


Figure II.10 : Photos d'une plaque C.C.M pour les extraits phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins)

Tableau II.4 : Interprétation des résultats de CCM des extraits phénoliques des graines de figuier de barbarie.

RF (Polyphénols totaux)	La couleur	(Markham. 1982)
0,18	Jaune	Non identifier
0,45	Jaune	Flavones
0,65	Bleu	Acide phénols
0,85	Jaune foncé	Flavonols
0,10	Mauve	Anthocyanidine 3-glycosides
0,20	Violet	Flavones

RF (les Tanins)	La couleur	(Markham. 1982)
0,40	Orange	Non identifier
0,68	Bleu	Acide phénols
0,85	Marron	Non identifier

RF (les Flavonoïdes)	La couleur	Identifier (Markham. 1982)
0,65	Bleu	Acide phénols
0,94	Mauve	Flavones
0,20	Violet	Flavonols

Le but de cette analyse chromatographique est de rechercher quels sont les familles des composés phénoliques présentes dans la graine de figuier de barbarie.

Par la révélation U.V et par comparaison avec les résultats de **Markham (1982)**, on a pu identifier quelques composés phénoliques tels que les flavones, les acides phénols, les flavonols et les anthocyanidine 3-glycosides.

IV. Détermination de la teneur en matière grasse :

L'huile extraite à partir des graines de figuier de barbarie est de couleur jaune vert, d'une odeur et de saveurs prononcées. Les fruits de figuier de barbarie ont été récoltés en fin de maturité (mois de décembre), car à ce moment les graines sont plus riches en huile et le rendement de ce fait sera meilleur (**Ameur Seddik et al., 2009**). Nos résultats révèlent un rendement en huile de l'ordre de 7,26%. Cette valeur est en adéquation avec celles de la bibliographie telles que 7% (**Ameur Seddik et al., 2009**), entre 7-8,5% (**Barbera et al., 1994**) et 9% (**Boujanh, 2000**).

La graine étant pauvre en eau et riche en matière grasse, ceci confirme nos résultats avec 5,36% d'eau et 7,26% de matière grasse. C'est une constatation générale sur tous les produits végétales, à savoir lorsque la teneur en eau est élevée la teneur en matière grasse est faible et vis-versa (relation inversement proportionnelle). On peut expliquer dans ce cas la déficience en eau de la graine par une teneur élevée en lipide.

IV.1 Détermination des indices physico-chimiques de l'huile des graines du figuier de barbarie :

L'intérêt principal de ces analyses réside dans l'identification des huiles à travers leurs propriétés physico-chimiques.

a- Les indices physiques :

1. Indice de densité :

L'indice de densité est considéré comme un critère physique qui permet le contrôle de la pureté de l'huile extraite. Le résultat montre une valeur estimée à 0,896, cette dernière est proche de celles trouvées en bibliographie (tableau II.5). Donc notre huile est pure comparée à l'huile de noix, de soja et de gland de chêne vert.

Tableau II.6 : Indice de réfraction de quelques huiles végétales.

L'huile végétale	Indice de réfraction N^20_d	Références
Huile d'arganier	1,4685	(Khaldi, 2007)
Huile de gland de chêne vert	1,466-1,468	(Belarbi, 2003)
Huile d'olive	1,4677-1,4705	(CA, 1983)
Huile d'arachide raffinée	1,468-1,472	(INCI, 2002)
Huile de tournesol	1,474-1,476	(CCE, 1985)
Huile de pépin de raisins	1,476	(Morand et Silvestre, 1960)

Nous avons constaté que l'huile de graine de figuier de barbarie se rapproche par son indice de réfraction avec l'huile d'arachide, l'huile d'olive et l'huile de gland de chêne vert.

L'indice de réfraction qui est également un critère important de pureté de l'huile est proportionnel au poids moléculaire des acides gras de l'huile. Il varie de façon intéressante selon le degré d'insaturation des lipides et peut nous donner une idée sur la prédominance d'un acide gras insaturé sur un autre dans l'huile (Ollé, 2002). Pour cela, une étude des AG de cet huile par une CPG-MS permettra de vérifier ces résultats.

b- Les indices chimiques :

1. L'indice d'acide :

Le corps gras est un des composés le plus altérable, la présence d'eau ou d'air peut entraîner respectivement des phénomènes d'hydrolyse et d'oxydation (Ollé, 2002).

Tableau II.3: Taux des polyphénols au niveau de quelques graines végétales.

La graine	Taux de polyphénols en mg /100g de Ms	Références
Figuier de barbarie	270	Travail personnel
Argania spinosa	379	Khaldi, 2007
L'olivier	83,8	Meziane-Medjdoub, 2010

Selon, **Macheix** et ses collaborateurs (1990), la concentration des polyphénols varie d'une espèce à une autre durant le stockage par les différentes voies de brunissement.

II.4 Dosage des tanins condensés et tanins hydrolysables :

La confirmation de la présence des tanins par les tests phytochimiques nous a conduit à effectuer le dosage des deux groupes de tanins, (condensés et hydrolysables). Les résultats sont présentés dans la Figure II.7.

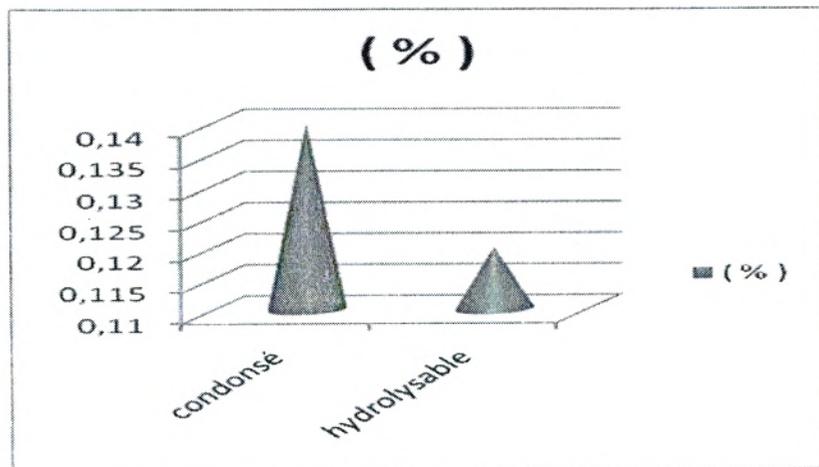


Figure II.8 :: Taux des tanins condensés et hydrolysables en % de la graine de figuier de barbarie par rapport à la MS.

Selon nos résultats nous remarquons que la teneur des tanins condensés est presque identique à celle des tanins hydrolysables avec respectivement 0.14% et 0.12%.

II.5 Dosage des flavonoides :

Lorsque nous avons effectué le dosage quantitatif des flavonoides on obtenu une valeur de 224 mg /100g ce qui signifie que la quantité des flavonoides est très élevée au niveau des graines du figuier de barbarie est constitue la majorité des polyphénols totaux (270 mg/100g) au niveau de notre graine.

III. analyse chromatographique sur couche mince des extraits phénoliques des graines du figuier de barbarie :

La chromatographie sur couche mince nous a permis d'identifier quelques groupes de composés phénoliques présents dans les graines de figuier de barbarie.

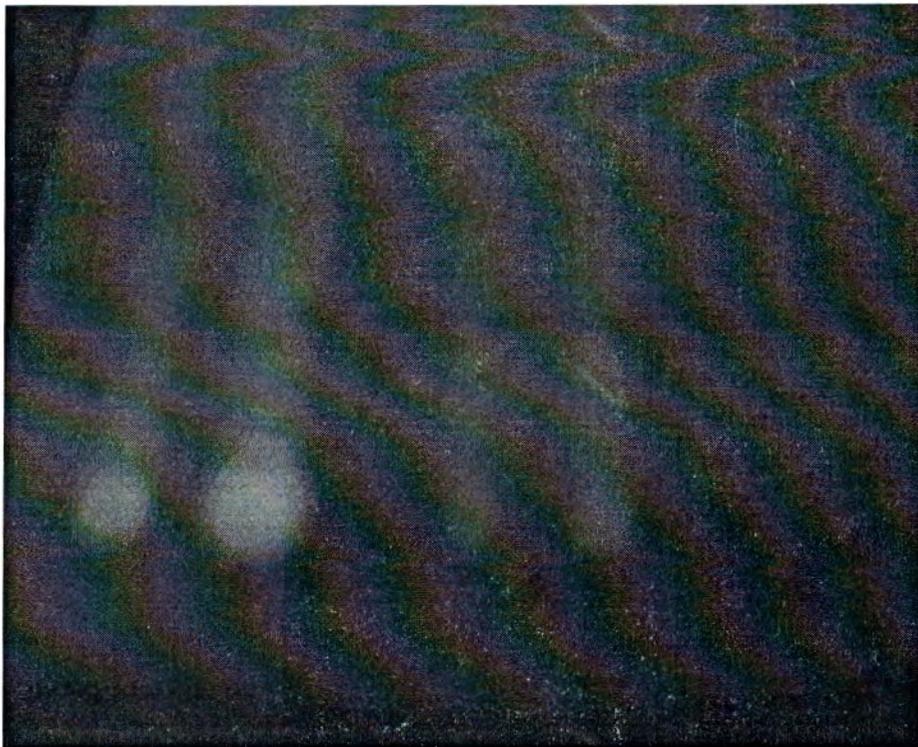


Figure II.10 : Photos d'une plaque C.C.M pour les extraits phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins)

Tableau II.4 : Interprétation des résultats de CCM des extraits phénoliques des graines de figuier de barbarie.

RF (Polyphénols totaux)	La couleur	(Markham. 1982)
0,18	Jaune	Non identifier
0,45	Jaune	Flavones
0,65	Bleu	Acide phénols
0,85	Jaune foncé	Flavonols
0,10	Mauve	Anthocyanidine 3-glycosides
0,20	Violet	Flavones

RF (les Tanins)	La couleur	(Markham. 1982)
0,40	Orange	Non identifier
0,68	Bleu	Acide phénols
0,85	Marron	Non identifier

RF (les Flavonoïdes)	La couleur	Identifier (Markham. 1982)
0,65	Bleu	Acide phénols
0,94	Mauve	Flavones
0,20	Violet	Flavonols

Le but de cette analyse chromatographique est de rechercher quels sont les familles des composés phénoliques présentes dans la graine de figuier de barbarie.

Par la révélation U.V et par comparaison avec les résultats de **Markham (1982)**, on a pu identifier quelques composés phénoliques tels que les flavones, les acides phénols, les flavonols et les anthocyanidine 3-glycosides.

IV. Détermination de la teneur en matière grasse :

L'huile extraite à partir des graines de figuier de barbarie est de couleur jaune vert, d'une odeur et de saveurs prononcées. Les fruits de figuier de barbarie ont été récoltés en fin de maturité (mois de décembre), car à ce moment les graines sont plus riches en huile et le rendement de ce fait sera meilleur (**Ameur Seddik et al., 2009**). Nos résultats révèlent un rendement en huile de l'ordre de 7,26%. Cette valeur est en adéquation avec celles de la bibliographie telles que 7% (**Ameur Seddik et al., 2009**), entre 7-8,5% (**Barbera et al., 1994**) et 9% (**Boujanh, 2000**).

La graine étant pauvre en eau et riche en matière grasse, ceci confirme nos résultats avec 5,36% d'eau et 7,26% de matière grasse. C'est une constatation générale sur tous les produits végétales, à savoir lorsque la teneur en eau est élevée la teneur en matière grasse est faible et vis-versa (relation inversement proportionnelle). On peut expliquer dans ce cas la déficience en eau de la graine par une teneur élevée en lipide.

IV.1 Détermination des indices physico-chimiques de l'huile des graines du figuier de barbarie :

L'intérêt principal de ces analyses réside dans l'identification des huiles à travers leurs propriétés physico-chimiques.

a- Les indices physiques :

1. Indice de densité :

L'indice de densité est considéré comme un critère physique qui permet le contrôle de la pureté de l'huile extraite. Le résultat montre une valeur estimée à 0,896, cette dernière est proche de celles trouvées en bibliographie (tableau II.5). Donc notre huile est pure comparée à l'huile de noix, de soja et de gland de chêne vert.

Tableau II.5 : Indice de densité de quelques huiles végétales.

Huile végétale comestible	Indice de densité à 20C°	Références
Huile de gland de chêne vert	0,924-0,928	(Belarbi ,2003)
Huile d'argania	0,906-0,919	(SNEMA ,2003)
Huile d'olive	0,910-0,916	
Huile de colza	0,914-0,917	
Huile d'amande	0,911-0,917	
Huile d'arachide	0,914-0,916	(Ollë, 2002).
Huile de maïs	0,919-0,923	
Huile de noix	0,924-0,926	
Huile de tournesol	0,920-0,925	
Huile de soja	0,921-0,924	

2. Indice de réfraction N_d^{20} :

Le résultat de la détermination de l'indice de réfraction de l'huile de graine du figuier de barbarie est estimé à 1,462. Il est le même que celui de la plupart des huiles végétales étudiées en bibliographie donc l'huile de type oléique (tableau II.6).

Tableau II.6 : Indice de réfraction de quelques huiles végétales.

L'huile végétale	Indice de réfraction N_d^{20}	Références
Huile d'arganier	1,4685	(Khaldi, 2007)
Huile de gland de chêne vert	1,466-1,468	(Belarbi, 2003)
Huile d'olive	1,4677-1,4705	(CA, 1983)
Huile d'arachide raffinée	1,468-1,472	(INCI, 2002)
Huile de tournesol	1,474-1,476	(CCE, 1985)
Huile de pépin de raisins	1,476	(Morand et Silvestre, 1960)

Nous avons constaté que l'huile de graine de figuier de barbarie se rapproche par son indice de réfraction avec l'huile d'arachide, l'huile d'olive et l'huile de gland de chêne vert.

L'indice de réfraction qui est également un critère important de pureté de l'huile est proportionnel au poids moléculaire des acides gras de l'huile. Il varie de façon intéressante selon le degré d'insaturation des lipides et peut nous donner une idée sur la prédominance d'un acide gras insaturé sur un autre dans l'huile (Ollé, 2002). Pour cela, une étude des AG de cet huile par une CPG-MS permettra de vérifier ces résultats.

b- Les indices chimiques :

1. L'indice d'acide :

Le corps gras est un des composés le plus altérable, la présence d'eau ou d'air peut entraîner respectivement des phénomènes d'hydrolyse et d'oxydation (Ollé, 2002).

La connaissance d'indice d'acide d'une huile est considérée comme un bon moyen pour savoir son degré d'altération. Il s'agit d'un critère chimique de fraîcheur et de pureté de l'huile. La détermination de l'indice d'acide de l'huile de figuier de barbarie a donné une valeur de 2.24.

Le type de sols a une influence sur l'augmentation ou la diminution de l'indice d'acide, les sols légers et sablonneux-limoneux ayant des pH légèrement acides (5,1-6,7) affectent l'indice d'acide des huiles des végétaux poussant sur ces sols (Nerd *et al.*, 1991).

2. L'indice de saponification :

L'indice de saponification nous renseigne sur la longueur de la chaîne carbonée des acides gras qui constituent les triglycérides (réfraction majoritaire d'un corps gras). La détermination de l'indice de saponification de notre huile a donné une valeur égale à 190,77. L' I_s de notre huile est légèrement supérieur à celui des huiles et largement inférieur à celui des corps gras et graisses étudiés en bibliographie (tableau II.7).

L'indice de saponification est d'autant plus élevé que la chaîne hydrocarbonée des acides gras est courte. De ce point de vue on peut affirmer que notre huile possède des AG de chaîne hydrocarbonées plus ou moins courtes puis que la valeur de son IS est situé entre celui des huiles (soja, tournesol,...), connus pour avoir des AG à longues chaînes, et celui des corps gras (beurre et graisse de palme) qui possèdent des AG à courtes chaînes.

Tableau II.7: Indices de saponification des principaux corps gras.

Corps gras	Indice de saponification I_s	Corps gras	Indice de saponification I_s	Références
Graisse de palme	195-205	Beurre	215-566	(ISO NF3657, 2003)
L'huile d'arachide	189-196	L'huile de tournesol	188-193	
L'huile d'olive	185-196	L'huile de soja	188-195	

L'*Opuntia ficus indica* et les produits qui en sont dérivés, notamment l'huile extraite de ses graines et les tourteaux de son fruit, ne sont pas valorisés comme ils devraient l'être en Algérie.

C'est dans ce contexte, que nous nous sommes intéressés à l'étude de cette espèce qui est présente sur tout le pourtour du bassin méditerranéen, en essayant d'apporter une contribution à l'étude phytochimique des graines de ses fruits, l'extraction d'huile de ses graines et éventuellement déterminer ses indices physicochimiques.

Les rendements des métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) ont été estimés à 0,8%; 0,4% et 2,5% respectivement. Le dosage quantitatif des polyphénols déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu est de 270 mg/100g, pour les flavonoïdes il est de 224 mg/100g. Alors que pour les tanins : les condensés ont une valeur de 0,14% et les hydrolysables 0,12%.

L'analyse qualitative des polyphénols des graines du figuier de barbarie effectuée par chromatographie sur couche mince (C.C.M.), nous a montré la présence de flavones, de flavonols, d'acides phénols et Anthocyanidine 3-glycosides.

L'évaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH de l'extrait des tanins et des flavonoïdes de figuier de barbarie a montré un pouvoir important, exprimé par une concentration de réduction de DPPH de l'ordre de 62,90 µg/ml, 30,10 µg/ml, 37,12 µg/ml respectivement.

La détermination de la matière grasse des graines de figuier de barbarie réalisée par la méthode de Soxhlet a révélé un taux estimé à 7,26%. La détermination des indices physicochimiques de l'huile extraite de la graine a donné comme indice de densité 0,896, indice d'acide 2,26, indice de réfraction 1,462, indice de saponification 190,77. L'analyse physico-chimique de l'huile extraite de la graine a montrée que c'est une huile pure et fraîche, et qu'elle peut être utilisée dans les différentes préparations à usage cosmétique.

Malgré ces divers usages, l'*Opuntia ficus-indica* reste insuffisamment mal exploité. Il renferme des potentialités jusqu'à la inconnues et dont la mise a jour pourrait donner à cette arbre un nouvel essor dans son contexte. Les différentes perspectives que nous pouvons envisagés sont :

- Détermination des métabolites primaires (protéines, sucres, fibres, matière minéral, vitamines) des différentes parties de l'*Opuntia ficus-indica*.

Une meilleure connaissance de la composition chimique de l'huile des graines de figuier de barbarie peut susciter un regain d'intérêt aussi bien pour des études liées à ses potentialités nutritionnelles que pour son utilisation en thérapeutique et en cosmétologique.

- Un screening des acides gras de l'huile des graines de l'*Opuntia ficus-indica* par une CPG-MS qui permettra de vérifier les utilisations de cette huile.
- Estimation du pouvoir antimicrobien des métabolites secondaires de l'*Opuntia ficus-indica*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Almazan A.M., Begum F. (1996).** Nutrients and antinutrients in peanut greens. *Journal of Food Composition and Analysis*, **9**, 375-383.
2. **Ameur Seddik A., Legseir B., (2009).** Valorization des graines de figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica*. Congrès International sur la santé et l'agro-alimentaire (Alger, 02 et 03 Décembre 2009).
3. **Amiot M. J., Babot-Laurent C., Touniaire F. (2007).** Plant Pigments as bioactive substances. In: Food colorants: chemical and functional properties (Ed. Socaciu, C.), CRC Press.
4. **Anonymous** Table de composition des fruits exotiques. Dans *Répertoire général des aliments*, 1993 ; pp.122-124.
5. **Arba M., (2000).** Les *Opuntia* fruits comestibles dans certaine région du Maroc. Dans *IIème journée nationale sur la culture du cactus*. 2000. El. Kelaa. DESsraghna-Maroc.
6. **Askar, A. ; El-Samahy, S.K., (1981).** *Dtsch. Lebensm-Rundsch.*, 1981, 77(8) ,279-281.
7. **Audigie Cl., Dupont G. (1982).** Principes des méthodes d'analyses biochimiques. Ed. Doin. Paris, 4-7.
8. **Baghdad C M. (2009)**
9. **Barbagallo, R.N. ; Spagna, G., (1999).** *Ind. ALIMENT.* , 1999, 38(383) ,815-817.
10. **Barbara G. ; Inglesse P. ; La Mantia T., (1994) .** *Sci. Horti.*, 1994, 58(1-2), 161-165.
11. **Barrek, T. Skanji, H. Zarrouk., (2008).** Étude de la composition de la fraction volatile des graines de figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*). *J. Soc. Chim. Tunisie*, 2008, **10**, 61-67.
12. **Belarbi M. (2003)** Etude des composés nutritionnels et antinutritionnels des glands de chêne et de l'efficacité nutritionnelle de leurs protéines chez les rats Wistar en croissance. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen.
13. **Blahova B., Brands Teterova E., Fabulova; (2004).** Isolation and détermination of phénolique. 27 (1), pp31.48.
14. **Boullard B., (1988).** *Dictionnaire de Botanique*. Marketing Ed. 1988

15. **Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S., McAnalley B. (2003).** Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition.*, **4** (6), 7.
16. **Brand-Williams M., Cuvelier M.E., Berset C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss U-Technol.*, **28**, 25-30.
17. **Bravo L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, **56**(11), 317-333.
18. **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). *Lavoisier Techniques & Documentation*. Paris, 369-388.
19. **CCE.1985.** Directive 85/572/CEE du conseil du 19 Décembre 1985 fixant la liste des stimulants à utiliser pour vérifier la migration des constituants des matériaux et objets en matière plastique destinée à entrer en contact avec les denrées alimentaires.
20. **Chung K.-T., Wong T.Y., Wei C.-I., Huang T.-W., Lin Y. (1998).** Tannins and human health: review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **38**(6), 421-464.
21. **Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000).** Natural products (Secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, **24**, 1250-1251.
22. **Dauget J.C., Foucher J.P. (1982).** Les flavonoïdes de *Arbutus unedo* L. (Ericacées). *Plantes médicinales et phytothérapie*, **16** (3), 185-191.
23. **De Cortazar V.G. ; Nobel P.S. (1992).** *J.Am.Soc.Hor.Sci.*, 1992,117(4) ,558-562.
24. **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F. (1999).** Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Science*, **65**(4), 337-353.
25. **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.
26. **Dominguez L.A. (1995).***Food Sci.Technol.Int.*, 1995, 1(2 &3), 65-74.
27. **El Mannoubi, S. Barrek, T. Skanji, H. Zarrouk. (2008).** Etude de la composition de la fraction volatile des graines du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*). *Journal de la Société Chimique de Tunisie*,**2008,10,61-67**

28. **ELKossori R.L. ;Villaume C. ;ELBoustani E. ;Sauvaire Y ;Mejean L.(1998).** *PlantFood Hum.Nut.*,1998,52(3),261-270.
29. **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.
30. *ficus-indica* prickly pear fruits. *C. R. Chimie* 8 (2005) 1123–1128
31. **Gonzalez C.L. (1989).***J.Arid Environ.*, 1989, 16,87-94.
32. **Guignard J.L(1993).***Abrégé de botanique.* Masson Ed.1993.
33. **Gupta S., Lakshmi A.J., Manjunath M.N., Prakash J. (2005).** Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized greens leafy vegetables. *LWT*, **38**, 339-345.
34. **Habibi Y, Mahrouz M, R.Vignon m. (2005).** D-Xylans from seed endosperm of *Opuntia*
35. **Hadi M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat en Sciences Domaine Pharmacochimie, Université Louis Pasteur, 155.
36. **Hagerman A.E., Riedl K.M., Jones G.A., Sovik K.N., Ritchard N.T., Hartzfeld P.W., Riechel T.L. (1998).** High molecular weight plant phenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. of Agric. and Food Chem.*, **46**, 1887-1892.
37. **Hamdi M. (1997).***Bioprocess Eng.*, 1997, 17(6), 387-391
38. **Haslam E. (1966).** Chemistry of Vegetable Tannins. London and New York: Academic Press.**Salunkhe D.K. (1990).** *Dietary tannins: consequences and remedies.* Boca Raton, Florida: CRC Press.
39. **Helmuth G.Z ;Granata G(1997).**Insect Pests. And Diseases.Dans *Cacti Biology and Uses*.P.S.Nobel Ed., 1997; pp.235-254.
40. **ISO 659. (1988).** Graines oléagineuses – détermination de la teneur en huile. *International Organisation for Standardization (ISO).* Geneva.
41. **ISO NF3657-** corps gras d'origine animale –végétal- Détermination de l'indice de saponification (indice de classement : TGO-206) J.O n°290 du 16 Décembre 2003. Texte n°118 paru au *Jor F/LD* page 21429.

42. **Jean F.I., Collin G.J., Lord D. (2006).** Huiles essentielles et extraits micro-ondes. *Parfumer & Flavorist*, **17**, 35-41.
43. **Khaldi D., (2007).** Etude chimique et nutritive d'argania spinosa. Diplôme de Magister. Université de Tlemcen.
44. **Leong L.P, Shui G.; (2002).** Antinvestigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets chemistry; **76**; 69-75.
45. **Leuttge,U.,New Physiologist,1993 ,125(1),59-71.**
46. **Lion, 1955**
47. **Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, **47**(1-4), 119-125.
48. **Maataoui B. S., Hmyene A. et Hilali S.(2005).** Activites anti-radicalaires d'extraction de jus de fruit du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*). *Lebanese Science Journal, Vol. 7, No. 1, 2006.*
49. **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. & Doc. Lavoisier*, Paris.
50. **Macheix J.J.,Fleuriet A.,Billot.J. (1990).***Fruit phenolics,CRC Press,Boca Raton,p 378.*
51. **Margham k.r.(1988).** Distribution of flavonoïde in the lower plants and evolutionary significance. In: The flavonoïdes, Advances in research since 1980.Harborne.J.B.Ed. Capman & Hall. London.pp.427-458.
52. **Maydani M. (2000.a).** Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**(suppl), 1665-1668.
53. **Maydani M. (2000.b).** Vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients. *Nutr. Rev.*, **58**, 278-281.
54. **Mohamedyasseen Y. ;BarringerS.A. ;SplittstoesserW.E.J(1996).***Arid. Environ.,1996 ,32(3),347-353.*

55. **Mole S., Waterman P.G. (1987).** Tannic acid proteolic enzymes: enzyme inhibition substrat derivation. *Phytochemistry*, **26**, 99-102.
56. **Morel Y., Barouki R. (1999).** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.*, **342** (3), 481-496.
57. **Nerd A. ;Karadi A. ;Mazhari Y.(1991).***Plants soil* ,1991,137(2),201-207.
58. **Odhav B., Beekrum S., Akula U., Baijnath H. (2007).** Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *J. of Food Composition and Analysis*, **20**, 430-435.
59. **Ollé, M; (2002).** Direction de la concurrence, de la consommation et de repression des faudes interregional de Montpellier. Dossier P3325.Technique d'analyse Vol papier n° :TA₄
60. **Palevitch D. (1994).** *Int.J.Att.comp.Med.*, 1994.
61. **Paolini V., Bergeaud J.P., Grisez C., Prevot F., Dorchies P., Hoste H. (2003.a).** Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, **113**, 253-261.
62. **Paolini V., Frayssines A., De La Farge F., Dorchies P., Hoste H. (2003.b).** Effects of condensed tannins established populations and on incoming larvae of *Trichostrongylus colubriformis* and *Teladorsagia circumcincta* in goats. *Veterinary Parsitology*, **34**, 331-339.
63. **Park E.H. ;Kahng J.H. ;Sang H.L.K.H. ;Shin K.H.(2001).**,*Fitoterapia*,2001,72(3),288-290.
64. **Pietta P. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *J. of Natural Products*, **63**(7), 1035-1042.
65. **Pimienta-Brrios E.(1993).***Ciencia*, 1993, 44(3), 339-350.
66. **Poupon J.E(1975).***Cactus et ressources fourragères.*Dans *Amélioration et aménagement des parcours forestiers.*1975 : MAMVA.
67. **Remesy C., Manach C., Demingné C., Texier O., Régérat F. (1996).** Intérêt des flavonoïdes. *Med. et Nutr.*, **22**, 247-258.
68. **Russel G.E.; Felker P. (1985).** *Econ.Bot.*, 1985, 41,433-445.

V. Estimation du pouvoir antioxydant des extraits des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes des graines de figuier de barbarie :

Les absorbances du DPPH résiduel en fonction de la concentration de l'activité antioxydant de nos trois extraits, montrent une diminution importante de l'absorbance à des doses très faibles comparée aux courbes de réduction de l'absorbance des antioxydants standards (Voir annexe).

L'activité antioxydant de nos extraits exprimée en EC₅₀ (**Tableau II.8**), qui est un paramètre introduit par Brand-Williams et ses collaborateurs (1995), définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité de DPPH. Ces EC₅₀ sont déterminés graphiquement des trois tests séparés dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydant en pourcentage. La valeur de chaque EC₅₀ exprime la concentration de l'extrait (tanins, flavonoïdes et alcaloïdes) exigée pour réduire le DPPH de 50 %.

Tableau II.8. EC₅₀ et puissance antioxydant (ARP) des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes des graines de figuier de barbarie comparés aux antioxydants standards (Acide ascorbique et Trolox).

	Tanins	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Acide ascorbique	Trolox
EC ₅₀ (µg/ml)	62,90	30,10	37,12	1.04	2.06
ARP	0.015	0.033	0.026	0.96	0.48

Comme il est indiqué dans le **tableau II.8**. Nos extraits de flavonoïde possèdent la capacité de neutralisation du radical libre DPPH la plus élevée (30,10 µg/ml) par rapport à nos deux autres extraits à savoir celui des tanins (62,90 µg/ml) et des alcaloïdes (37,12 µg/ml). Les flavonoïdes sont connus pour être d'excellents antioxydants naturels.

En comparant les EC_{50} de nos extraits avec celles des antioxydants standards comme le Trolox (2,06 $\mu\text{g/ml}$) et l'acide ascorbique (1,04 $\mu\text{g/ml}$), on peut dire que les extraits des flavonoïdes et des alcaloïdes sont acceptables. Par contre celui des tanins possède un faible pouvoir antioxydant. Les capacités de balayage du radical sont classées dans l'ordre :

Extrait Flavonoïde > Extrait alcaloïde > Extrait tanin

CONCLUSION

69. **Saenz C. (2002).** *Acta.Horticulturae*, 2002, 581,253-263.
70. **Salgado T.T. Mauseth J.D(1997).** Shoot anatomy and morphology. Dans *Cacti : Biology and Uses* ;P.S.Nobel Ed., 1997 ;pp 23-56.
71. **Salunkhe D.K. (1990).** *Dietary tannins: consequences and remedies*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
72. **Sawaya W.N. ;Khan P(1982).** *J.Food Sci.*,1982,47(6),2060-2061.
73. **Sawaya W.N.; kalil J.K. ; AL-Mohamed M.M.(1983).** *Qual.Plant-Plant Foods Hum., Nutr*, 1983,33(1) ,91-97.
74. **Shoop M.C. ;Alford E.J. ;MaylandH.F.(1977).** *J.,Range Mgmt.*,1977,30,12-16.
75. **Stintzing F.C ;Schieber A. ;CarleR.(2001).** *Eur.Food Res.Technol.*,2001,212(4),396-407.
76. **Sutton B.C.Ting I.P. ;Sutton R(1981).** *Plant Physiol.*, 1981, 68(3), 784-787.
77. **Swain T. (1979).** Tannins and lignins. *Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites* (Ed. Par Rosenthal G.A. et Janzen D.H.), 637-682. New York: Academic Press.
78. **Swain T., Hillis W.E. (1956).** The phenolics constituents of *prunus domestica -1-* the quantitative analysis of phenolics constituents. *J. of the Sci. of Food and Agric.*, **10**, 13.
79. **Trease E; Evans W.C.(1987).** *Pharmacognosy.Billiare.Tindall.Londone* 13 th Edn ; pp : 61-62.
80. **UchoaA.F. ;SouzaP.A.S. ;ZarateR.M.L. ;GomesFilhoE. ;CamposF.A.P(1998).** *Braz J.Med.Biol.Res.*, 1998,31(6) ,757-761.
81. **Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
82. **Vijayakumari K., Siddhuraju P., Janardhanan K. (1997).** Chemical composition, amino acid content and protein quality of the little-known legume *Bauhinia purpurea* L. *J. Sci. Food Agric.*, **73**, 279-286.

83. **Waghorn G.C., McNabb W.C. (2003).** Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proceeding of the Nutrition Society*, **62**, 383-392.
84. **Wallace R.S.;Gileson A.C(1997).**Evolution and Sustematics.Dans *Cacti : Biology and uses* ; P.S. Nobel Ed.,1997 ;pp.1-21.
85. **Wolff. (1968).**Manuel d'analyse des corps gras,Ed. Azoulay Paris
86. **Wong S.P., Leang L.P., Koh J.H.W; (2006).**antioxidant activites of aqueous extracts of selectede plants food chimestry; 99; 775-783.
87. **Yang S.W; Malone S; Werkhoven M. C. M ; Wisse J.H; Shu Y.Z; Vyas D.M; Kingston D.G.I. (1999).** Synthesis and biological evaluation analogues of cryptolepine, analkaloid isolated from the Surinam raiforest. *J. Nat. Prod.* 62,976-983.
88. **Yu Z.,Dhlgren R.A.; (2005).** Evaluation of methode for measuring polyphénols in copper foliage *J. Chem.Ecol.*26:21-19-21-40

ANNEXES

La gamme d'étalon des phénols totaux:

La concentration d'un composé phénolique, la catéchine, sera déterminée grâce à une gamme d'étalon, pour cela.

- À partir d'une solution mère de catéchine de 30 mg / 60 ml (méthanol/eau), on prélève.

20 µl / 40 µl / 60 µl / 80 µl / 100 µl.

- ces volumes sont complétés à 1.7 ml par l'eau (MQ) ensuite 300 µl de réactif de Folin dilué 1/10 sont ajoutés. Après 3 min 0.5 ml de Na₂CO₃ à 20% sont ajoutés. Incubation à 40 C° pendant 30 min. Puis lire l'absorbance à 760.

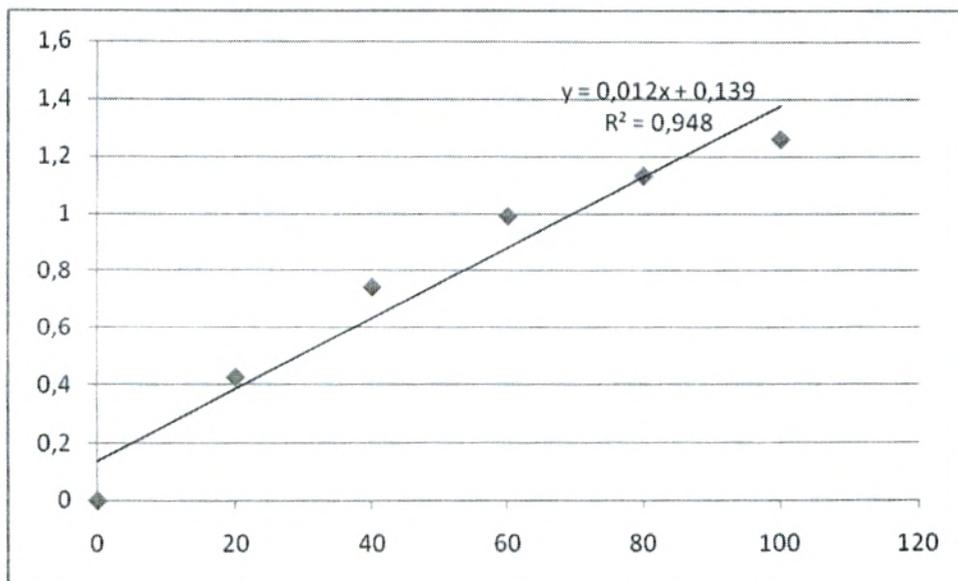


Figure II 7 : Courbe d'étalonnage de polyphénols totaux

La gamme d'étalon des flavonoïdes :

La concentration d'un composé phénolique, la rutine, sera déterminée grâce à une gamme d'étalon, pour cela.

- À partir d'une solution mère de catéchine de 30 mg / 60 ml (méthanol/eau), on prélève.

20 µl / 40 µl / 60 µl / 80 µl / 100 µl.

- on ajoute on suite 1 ml d'AlCl₃ dans chaque tube.

- après 15 min à l'obscurité lire l'absorbance à 430 nm

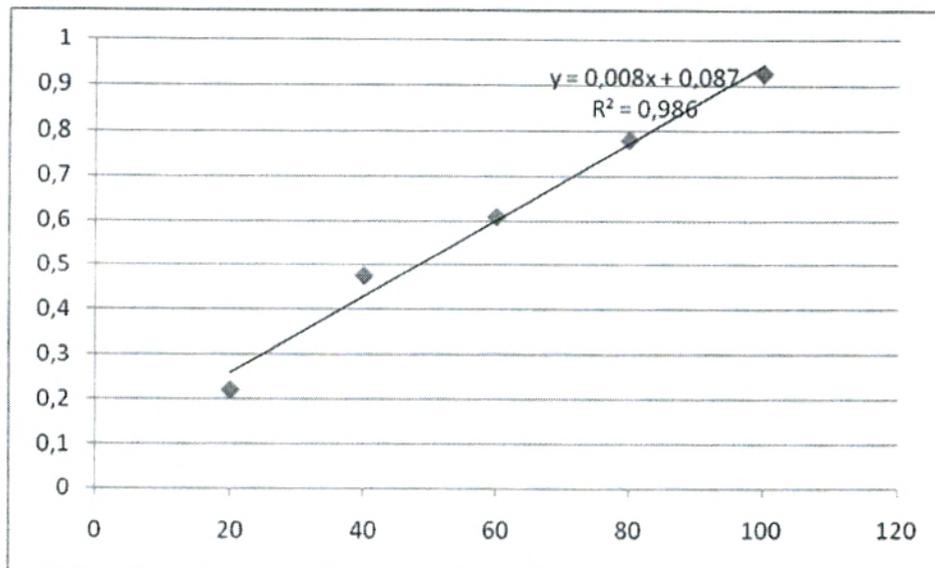


Figure II : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Les courbes de pouvoir antioxydant des flavonoides, alcaloides et tanins des extrait de graine de figuier de barbarie

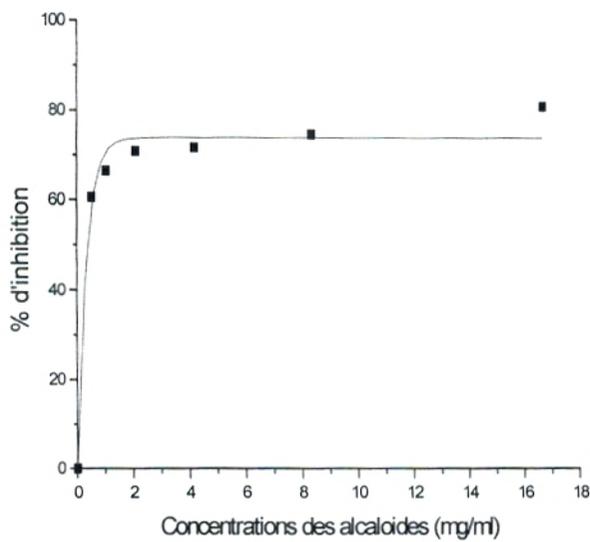


Figure II.11a. Pouvoir antioxydant de EA de graine de figuier de barbarie

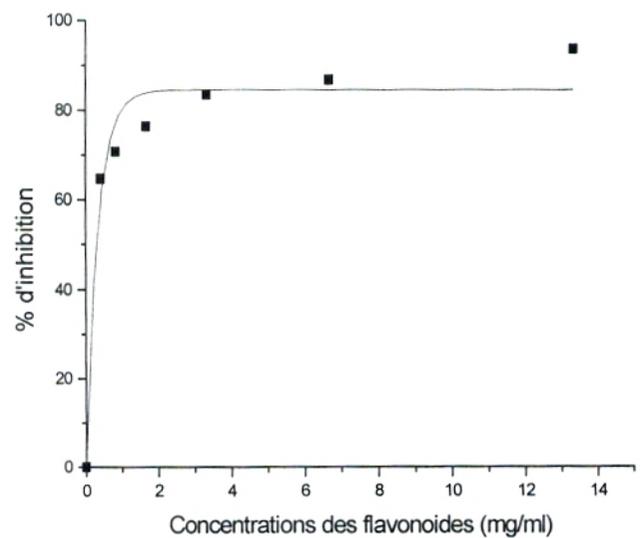


Figure II.11b. Pouvoir antioxydant de EF de graine de figuier de barbarie

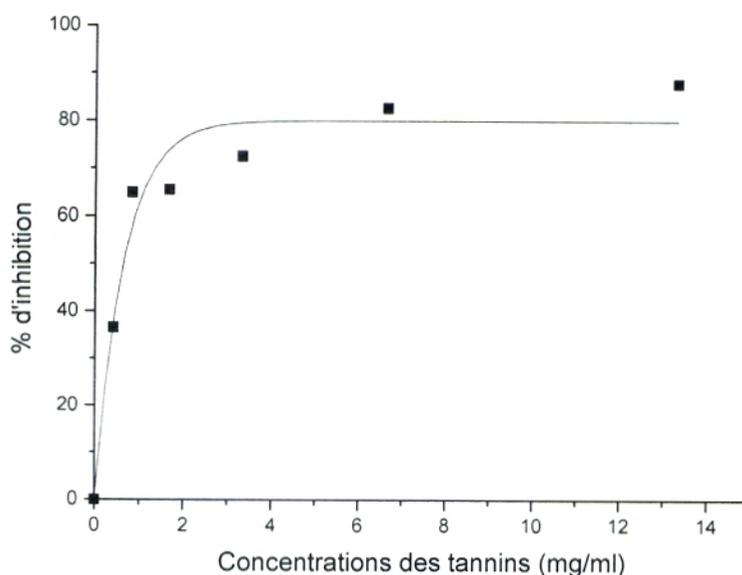


Figure II.11c. Pouvoir antioxydant de ET De graine de figuier de barbarie

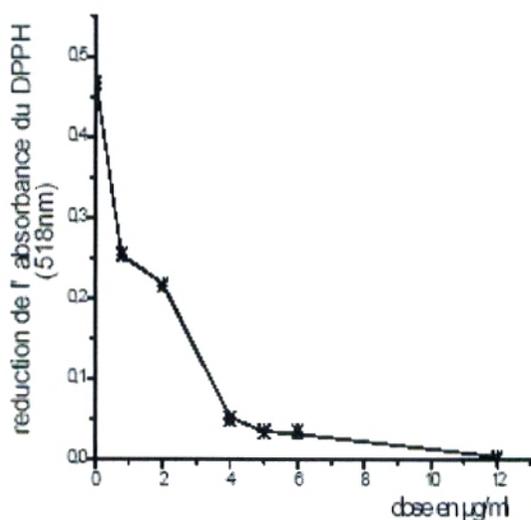


Figure II.11d. Activité antioxydant du Trolox

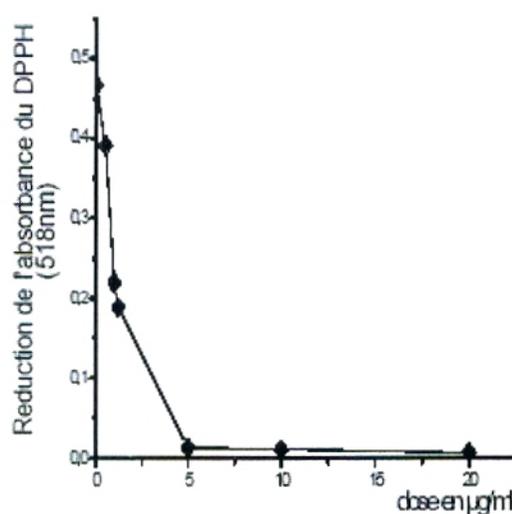


Figure III1e. Activité antioxydant de l'acide ascorbique.

Préparation des solutions et des réactifs.

Réactif de Mayer :

D'une part dissoudre 1.358g de HgCl_2 dans 60ml d'eau et d'autre part 5g de KI dans 10ml d'eau mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100ml avec de l'eau distillée

Réactif de Wagner :

Dissoudre 2g de KI et 1.27g d' I_2 dans 75 ml d'eau ajusté le volume total à 100ml avec de l'eau distillée.

Réactif C :

Mélanger FeCl_3 0.01M avec une solution d' HCl 0.001M (V/V).

الخلاصة

شجرة التين البربرية (صبار الفكس/إينديك) وفيرة جداً في الأراضي الجزائرية، وتستهلك ثمارها من طرف السكان المحليين. قروي غالباً كغلاق للأراضي العشبية قبل البشر منذ آلاف السنين.

وهذا النبات تستخدم جميع مكوناته للأغراض الغذائية والطبية. الفواكه فيها عدد كبير من البذور التي تحتوي على ما يقرب من 7,26 % الدهني المستخرجة بواسطة الأسلوب سوكسهليت. وتقدر كثافة زيت هذه بذور ب 0,896، مقياس الحمض 2,24، معامل الانكسار 1,462 ومؤشر تصبب 190,77.

المعايير الكمية من مركبات البوليفينولات لبذور التين البربرية قدرت مستوياتها ب 270 ملغ/100 غرام من مجاميع بوليفينولات الكلية و 224 ملغ/100 غرام من الفلافونويد.

يمكن تقييم القدرة المضادة للأكسدة بواسطة دي بي بي إيتش لمستخلصات التين البربرية كالعفص و الفلافونويد و الاكلويد أظهرت قوة هامة وأعربت عن انخفاض تركيز دي بي بي إيتش على التوالي: 90, 62 ميكروغرام/مل، 30,10 ميكروغرام/ 37,12 ميكروغرام/مل.

الكلمات الرئيسية: منطقة تلمسان صبار الفكس/إينديك، الزيوت، بوليفينول، ومضادات الأكسدة.

Résumé

Le figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) est très abondant sur le territoire algérien, ses fruits sont consommés par la population locale. L'*Opuntia* est utilisé souvent comme clôture pour les prairies par les humains depuis des milliers d'années.

C'est l'une des plantes où l'on utilise tous ses organes pour des fins nutritionnelles et médicales. Les fruits contiennent de nombreuses graines renfermant près de 7,26 % de lipides qui ont été extrait par la méthode de Soxhlet. L'huile de ces graines a comme indice de densité 0,896, indice d'acide 2,24, indice de réfraction 1,462 et indice de saponification 190,77. Les dosages quantitatifs des composés phénoliques des graines du figuier de barbarie ont révélés des teneurs de 270mg/100g pour les polyphénols totaux et 224mg/100g de flavonoïdes. L'évaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH de l'extrait des tanins et des flavonoïdes de figuier de barbarie a montré un pouvoir important, exprimé par une concentration de réduction de DPPH de l'ordre de 62,90 µg/ml, 30,10 µg/ml, 37,12 µg/ml respectivement.

Mots clés : *Opuntia ficus-indica*, l'huile, polyphénols, pouvoir antioxydant, région de Tlemcen.

Summary

Opuntia ficus-indica, the fig tree of barbarism (*Opuntia ficus-indica*) is very abundant in the Algerian territory; its fruits are consumed by the local population. The *Opuntia* is used often used as closing for grassland by humans for thousands of years.

This is a plant where it uses all its organs for nutritional and medical purposes. Fruits contain many seeds containing nearly 7, 26% of lipids extracted by the Soxhlet method. These seed oil has as density 0,896, index acid 2.24, refractive index 1,462 and index of saponification 190, 77. Fruit mixture quantitative determinations of seeds of the fig tree of barbarity phenolic compounds revealed levels of 270 mg / 100 g to polyphenols totals and 224 mg / 100g of flavonoids. The evaluation of antioxidant activity by DPPH of tannins and flavonoids extract barbarity fig showed an important power expressed by a concentration reduction of DPPH order of de 62,90 µg/ml, 30,10 µg/ml, 37,12 µg/ml respectively.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*, oil, polyphenols, antioxidant, Tlemcen region.