



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

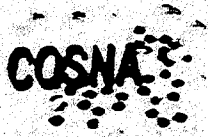
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID - TLEMCCEN

Faculté des Sciences

Département de chimie

LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE SUBSTANCES NATURELLES ET
ANALYSES -COSNA-



*Etude comparative des teneurs en polyphénols et
antioxydants des extraits des pépins de melon*

Mémoire présenté par :

MERAD Nadjiya

En vue de l'obtention du diplôme de

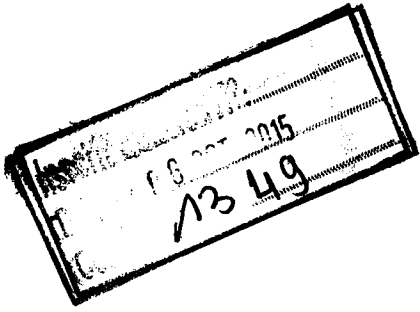
Master Chimie

Spécialité : Chimie Bio-Organique et Thérapeutique

Soutenu publiquement, le 9 juin 2015 devant le jury composé de :

Mr. Z.Arrar	Président	UAB-Tlemcen
Mr. J. Kajima Mulengi	Examineur	UAB-Tlemcen
Mr. B.Mostefa Kara	Examineur	UAB-Tlemcen
M ^{elle} J. Negadi	Examinatrice	UAB-Tlemcen
Mme. W.Sebaa	Examinatrice	UAB-Tlemcen
Mr. D.Bendiabdellah	Examineur	UAB-Tlemcen
Mr. A.Mezrai	Invité	UAB-Tlemcen
Mme. A.Keniche	Invitée	UAB-Tlemcen
Mme. W.Drici	Directrice de mémoire	UAB-Tlemcen

MS/546 - 03/01



« Je suis de ceux qui pensent que la science est d'une grande beauté. Un scientifique dans son laboratoire est non seulement un technicien : il est aussi un enfant placé devant des phénomènes naturels qui l'impressionnent comme des contes de fées. Nous ne devrions pas laisser croire que tout progrès scientifique peut être réduit à des mécanismes, des machines, des rouages, quand bien même de tels mécanismes ont eux aussi leur beauté. Je ne crois pas non plus que l'esprit d'aventure risque de disparaître dans notre monde. Si je vois quelque chose de vital autour de moi, c'est précisément cet esprit d'aventure, qui semble qui me paraît indéracinable et s'apparente à la curiosité. Sans la curiosité de l'esprit, que serions-nous ? Telle est bien la beauté et la noblesse de la science : désir sans fin de repousser les frontières du savoir, de traquer les secrets de la matière et de la vie sans idée préconçue des conséquences éventuelles. »

Marie Curie



Dédicace

Je dédie ce travail :

A ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A Amine, qui m'a soutenu durant toute ma formation, pour sa patience, sa gentillesse, que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein.

A mes sœurs Imène et Rihab, les mots, ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A mon frère Abdelkrim, qui m'a beaucoup aidé dans ce travail, pour sa gentillesse, je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité.

A mes chères Latifa et Hassiba, vous présentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A ma tante Meriem, qui m'a beaucoup aidé durant toutes mes années d'études, toujours présente pour les bons conseils, t'affection et ton soutien m'ont été un grand secours au long de ma formation.

A mes amies et sœurs, Samia, Amina, Wafaa, Fatima, pour leurs soutien moral et matériel, leurs gentillesse sans égal.

A tous mes professeurs, qui ont contribué dans ma formation.

A tous mes amis et camarades au laboratoire COSNA.

A toute ma famille.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Remerciement

Ce mémoire a représenté pour moi une période de vie à la fois intense et enrichissante, et ce en grande partie grâce aux personnes que j'ai côtoyé, qui m'ont soutenue et écoutée.

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Ce travail n'aurait pas vu le jour sans le soutien financier de la DGRSDT et le ministère d'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, que je tiens vivement à remercier.

Mes remerciements s'adressent au professeur J. Kajima Mulengi directeur de laboratoire de Chimie Organique Substance Naturel et Analyse (COSNA) pour son aide et sa disponibilité durant toute notre recherche.

Je tiens à remercier mon encadreur Madame Drici Wassila, docteur en chimie organique appliquée à la faculté des sciences pour ses précieux conseils, son aide et pour m'avoir soutenue tout au long de cette tâche. Je tiens à la remercier de la qualité de son suivi et de la confiance qu'elle a bien voulu m'accorder.

Mes remerciements vont également au Président de Jury Monsieur Dr. Zoheir ARRAR, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Madame Lemerini wafaa qui m'a beaucoup aidé durant mon travail et pour la confiance qu'elle m'a accordée.

Je remercie aussi monsieur D. Bendiabdelah, pour son aide et ses conseils qui m'ont beaucoup aidé durant ma recherche.

Je remercie infiniment les doctorantes du laboratoire COSNA M^{elle} Benyamina Samia, M^{elle} Amouri Amina, M^{elle} Benattia Farah, M^{elle} Benyoucef Fatima et M^{elle} Bouazzaoui Wafaa, pour leurs aides et leurs patiences durant mon travail.

Je remercie vivement notre ingénieur de laboratoire Mr Benariba Hassan, pour son aide, sa gentillesse et sa disponibilité durant tout le travail.

Je remercie Mr Belyagoubi.Larbi et ses étudiants, Mr Bahraoui Youcef et Azizi Radouane, pour l'occasion qui m'ont offert au département de biologie de la faculté de Tlemcen.

Je remercie mes parents pour leurs soutiens et leurs présences dans ma vie, ils sont la lumière qui illumine mon chemin, que dieu les bénissent. Je vous aime de tout mon cœur.

Table des matières

Introduction générale	P1
------------------------------------	----

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Etude botanique de melon

1-Présentation de l'espèce	P3
2-Description botanique de melon	P3
3-Culture de melon.....	P5
4-Les différents types de melon	P6
5-Propriétés et caractéristiques de melon.....	P7

Chapitre II : Les pépins de melon jaune canari

1-Le melon jaune canari.....	P8
2-Les pépins de melon	P9
3-Les huiles extraites des pépins de melon	P10
3.1-Les propriétés physico-chimiques de l'huile.....	P11
3.2-Les acides gras.....	P11

Chapitre III : Les méthodes d'extractions

1-Extraction par macération.....	P13
2-Extraction par hydrodistillation.....	P13
3-Extraction par distillation à la vapeur.....	P14
4-Extraction au CO ₂ supercritique.....	P14
5-Extraction assistée par micro-onde.....	P15
6-Extraction par soxhlet (percolation).....	P16

Chapitre IV : Les polyphénols et l'activité antioxydante

1-Métabolites végétaux.....	P18
-----------------------------	-----

2-Les composés phénoliques ou les polyphénols.....	P18
2.1-Classification des composés phénoliques	P19
3-L'activité antioxydante.....	P21
3.1-Définition.....	P21
3.2-Les radicaux libres.....	P21
3.3-Les différents types de radicaux libres	P22
3.4-Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action...	P23
3.5-Classification des antioxydants suivant leurs natures chimiques.....	P23
3.6-Les méthodes de la détermination de l'activité antioxydante	P25

DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EFFECTUE

Chapitre I : Partie expérimentale

I-Méthodes et matériels.....	P27
1-Matériels et instruments.....	P27
2-Matériel végétal.....	P27
3-Préparation des extraits.....	P27
II-Dosage des polyphénols totaux	P29
III-Tests biologiques.....	P30
1-L'activité antioxydante par la méthode DPPH.....	P30
2-L'activité antimicrobienne.....	P31

Chapitre II : résultats et discussion

1-Influence du type de solvant et la méthode d'extraction	P33
2-Estimation quantitative des polyphénols totaux.....	P34
3-Evaluation des activités biologiques.....	P38
3.1-Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	P38
3.2-Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....	P40

Conclusion générale.....	P42
---------------------------------	------------

Références bibliographiques.....	P43
---	------------

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. L'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une partie des 400'000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans photochimiques et pharmacologiques, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents [1]. Certaines plantes ne sont pas exclusivement utilisées pour les soins médicaux humains mais également appliquées en médecine vétérinaire comme plantes toxiques utilisées en tant que pesticide, poison ou encore comme narcotiques [2].

Jusqu'au XIXe siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la «pharmacie du bon Dieu» pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes (la quinine du quinquina, la digitaline de la digitale, etc.). Poursuivant leurs recherches, au début du XXe siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques. Désormais, croyait-on, on allait prescrire exclusivement des médicaments issus des cornues, les plantes ne servant plus que de réserves à molécules chimiques utiles [3].

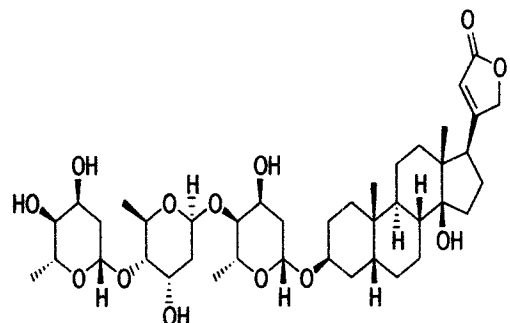
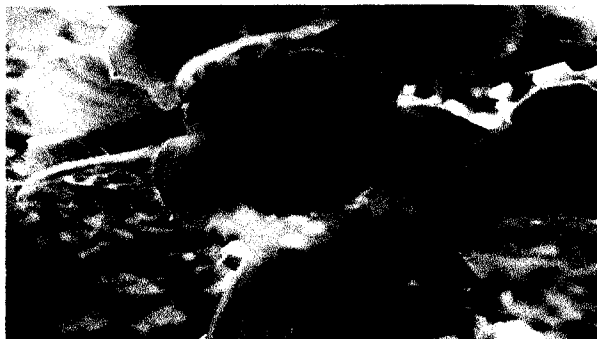


Figure 1: La digitale et la structure de la digitaline

En général, le corps humain est bien mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapeutique exclusivement chimique. L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis des dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives [3].

Liste des figures

Figure 1: La digitale et la structure de la digitaline	1
Figure 2: Les cucurbitales	3
Figure 3: La plante du melon	4
Figure 4: Les différentes couleurs de la chair (orange, verte, blanche)	5
Figure 5: Structures de quelques composés présents dans le melon	7
Figure 6 : Les pépins de melon	9
Figure 7 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile	13
Figure 8 : Appareillage de distillation à la vapeur (entraînement à la vapeur d'eau)	14
Figure 9 : Appareillage utilisé dans l'extraction par CO ₂ supercritique	15
Figure 10 : Appareillage d'extraction par micro-onde	16
Figure 11 : Appareillage d'extraction par le soxhlet	17
Figure 12: Structure d'un polyphénol provenant des fruits	19
Figure 13 : Une cellule avec stress oxydatif	22
Figure 14 : Les sources des radicaux libres et leurs dégâts	22
Figure 15: Structures des antioxydants de synthèse	25
Figure 16: Extraction par soxhlet et évaporation de l'extrait	28
Figure 17: Extraction par macération et évaporation de l'extrait	29
Figure 18: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	30
Figure 19: Histogramme des rendements d'extractions	34
Figure 20: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (méthode 1)	35
Figure 21: Histogramme des teneurs en polyphénols des extraits	36
Figure 22: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (méthode 2)	37
Figure 23: Histogramme des teneurs en polyphénols des extraits alcooliques	38
Figure 24: Les zones d'inhibitions des extraits en présence de la souche de Bacillus cereus	41

Liste des tableaux

Tableau 1 : La composition chimique et la valeur nutritionnelle pour 100g de melon peu mûr	8
Tableau 2 : Teneur en minéraux des pépins de melon	10
Tableau 3 : Les acides gras contenant dans les pépins de melon	12
Tableau 4 : Classification des composés phénoliques	20
Tableau 5 : Les antioxydants selon leur mécanisme d'action	23
Tableau 6 : Classification des antioxydants selon leur nature chimique	24
Tableau 7: Les rendements d'extractions	33
Tableau 8: La teneur en phénols des différents extraits	35
Tableau 9: La teneur en phénols des différents extraits	37
Tableau 10: Les résultats de l'activité antioxydante des extraits	39
Tableau 11: Les zones d'inhibitions des extraits	40

Les fruits et légumes sont des alliés santé indispensables. Riches en vitamines, minéraux et antioxydants, ils sont indispensables pour préserver notre organisme et réduire les risques de cancer, d'obésité, de maladies cardiovasculaires... etc [4].

Les polyphénols sont très abondants dans les fruits et légumes, ils protégeraient de nombreuses maladies telles que :

- Les maladies cardiovasculaires : Les polyphénols pris lors d'un repas permettraient de lutter contre l'oxydation du mauvais cholestérol. Cela empêcherait ainsi les phénomènes à l'origine de l'obstruction des artères [5].
- Les maladies cancéreuses : comme tous les composés antioxydants, les polyphénols préviennent la formation des tumeurs. En effet, ils empêchent la formation des agents à l'origine des mutations génétiques nocives [5].

De manière générale, une consommation régulière de fruits et légumes a bien sûr un effet bénéfique sur le vieillissement général de l'organisme. Cela permet de le protéger contre de nombreuses maladies. Cela est vrai pour tous nos organes, y compris le cerveau. Par exemple, consommer des végétaux protégerait contre l'apparition de troubles neurodégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer. Ces vertus seraient liées aux nombreux antioxydants contenus dans les fruits et légumes, que ce soit les vitamines, les minéraux ou les fameux polyphénols. En limitant l'attaque des neurones par les radicaux libres, ils diminueraient les risques de ces maladies [6].

D'après la littérature, les substances naturelles restent toujours une meilleure source des produits non agressifs pour la santé. Dans ce travail nous avons fixé comme objectif d'étudier la teneur des polyphénols et les antioxydants, présente dans les pépins de melon jaune canari de la région ouest de l'Algérie.

Pour atteindre ces objectifs, nous nous sommes proposé d'étudier, dans un premier temps, l'influence de deux paramètres expérimentaux (solvants et méthodes) sur l'extraction des pépins de melon. Ensuite, effectuer une analyse quantitative des polyphénols totaux dans les extraits bruts obtenus avec les différents solvants employés. Dans un deuxième temps, une évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne est envisagée afin de vérifier l'intérêt biologique des extraits végétaux.

Partie bibliographique

Chapitre I : Etude botanique sur le melon

1-Présentation de l'espèce

Le terme « melon », qui est apparu dans la langue française au XIII^e siècle, dérive du latin Melo ou melopepone (littéralement « pomme-melon »). Le Melon (*Cucumis Melo*) est une plante herbacée annuelle originaire d'Afrique intertropicale, appartenant à la famille des Cucurbitacées [7].

2-Etude botanique

Le melon est une Angiospermes, la division des Magnoliophytas ou Angiospermes regroupe les plantes à fleurs, et donc les végétaux qui portent des fruits. Ils représentent la plus grande partie des espèces végétales terrestres de l'ordre des Cucurbitales, proche de l'ordre des Fagales (bouleau, hêtre, ...). Les deux familles les plus importantes en nombre d'espèces dans l'ordre des Cucurbitales sont les Bégoniacées et les Cucurbitacées. Parmi les Cucurbitacées, le genre *Cucumis* a récemment été redéfini et inclue maintenant plusieurs anciens genres voisins (*Myrmecosicyos*, *Dicaelospermum*). Il comprend plus de 40 espèces dont deux ont une grande importance économique : le melon (*Cucumis melon*) et le concombre (*Cucumis sativus*). Si le genre *Cucumis* est probablement originaire d'Asie, l'espèce melon est originaire d'Afrique. Le melon est diploïde avec 2 fois 12 chromosomes. Il se distingue de la plupart des espèces voisines par l'absence d'aspérités ou d'épines sur le fruit [8].



Figure 2: Les cucurbitales

Le melon est une plante herbacée annuelle. La tige n'est pas volubile mais la plante peut grimper en s'accrochant à des supports grâce à des vrilles simples. Les feuilles sont généralement entières assez arrondies, parfois assez fortement découpées. Les fleurs ont une corolle orange et la biologie florale est assez complexe [8].

Le melon est très sensible à la température et à la lumière (intensité lumineuse et durée du jour). Si les conditions sont favorables, le calendrier de production peut être le suivant :

- ✓ un mois du semis à l'apparition des premières fleurs mâles ;
- ✓ un mois de plus pour l'apparition des fleurs femelles ;
- ✓ un à deux mois entre la pollinisation et la maturation du fruit suivant la taille et le type de fruit.

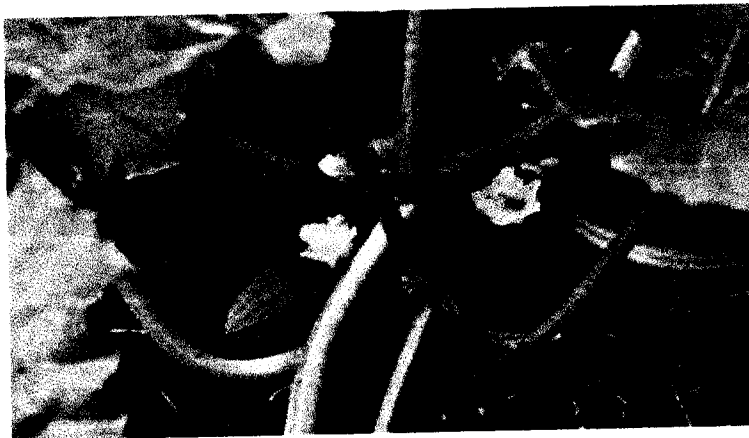


Figure 3: La plante du melon

La première classification générale est celle de Naudin (1859) et elle sert encore aujourd'hui de référence. Ce sont essentiellement des caractères du fruit qui servent à ces classifications : forme et poids du fruit, présence ou absence de sillons, de côtes, de plis, de broderies, couleurs primaires et secondaires et répartition des couleurs (tâches, rayures), couleur de la chair, sucre, texture, taille et couleur des graines, type de maturation (climactérique ou non climactérique). Globalement on peut distinguer trois grands groupes [8] :

- ✓ Les « melons légumes » qui sont récoltés immatures et même à maturité ne sont pas sucrés
- ✓ les « melons fruits » récoltés à maturité et sucrés.
- ✓ le « melon parfum » récolté à maturité, non consommé.

Un critère important pour les « melons fruits » récoltés à maturité est la durée de conservation après récolte. Certains types variétaux ont une crise climactérique intense correspondant à une évolution très rapide avec une perte de fermeté de la chair, des fermentations alcooliques, le développement de composés volatils désagréables. D'autres au

contraire ont une crise climactérique très faible voire absente et peuvent se conserver très longtemps après récolte [8].



Figure 4: Les différentes couleurs de la chair (orange, verte, blanche)




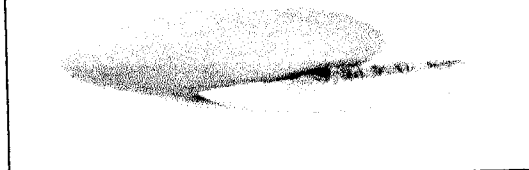


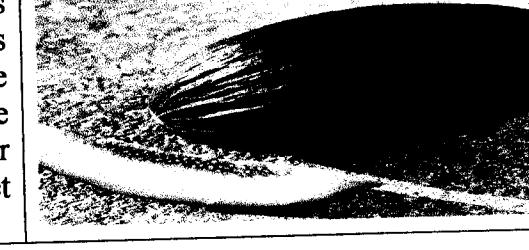
3-La culture du melon

Le melon est une plante allogame qui se cultive par semis au milieu du printemps. Mieux vaut semer en place car les racines des cucurbitacées sont assez fragiles. Planter deux ou trois graines (afin de sélectionner le meilleur plant) tous les mètres car le melon a tendance à s'étaler. Il apprécie un emplacement chaud, ensoleillé et un sol riche (type fumier). En l'absence de fumier et pour faciliter le développement, on pourra apporter un engrais riche en potassium (NPK) [9].

Lorsque le melon commence à faire une certaine taille, on peut le poser sur une tuile ou un tapis de gravier pour le protéger de l'humidité du sol et de façon que ce support lui apporte un maximum de chaleur propice à la maturation du fruit. Le melon est mûr lorsque ses feuilles et son écorce commencent à jaunir et sa peau et son pédoncule à craqueler [9].

Il y a quatre facteurs qui jouent sur la qualité d'un melon : variété, ensoleillement, irrigation et maturité du fruit le jour de la récolte. Il est important de récolter le melon après une bonne période d'ensoleillement et plutôt le soir que le matin (le matin, les sucres sont plus bas avec l'utilisation du sucre de la plante comme aliment pendant la nuit où la plante respire sans photosynthèse). Le melon est sensible à l'oïdium (appelé aussi « maladie du blanc » ou « blanquet », est une maladie fongique due à plusieurs espèces de champignons ascomycètes de la famille des Erysiphaceae). Il a besoin d'un apport en eau régulier mais un arrosage à la base en évitant de mouiller les feuilles et un bon paillage limitent l'infection par l'oïdium [10].

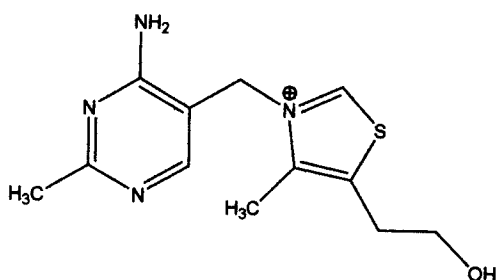
4- Les différents types de melon [11-12]

Genre de melon	Description	Image
Melon cantaloup (C. melo var. cantalupensis)	Son écorce verruqueuse ou lisse présente des côtes marquées. Chair orange sucrée. Pour plusieurs, c'est le nec plus ultra des melons. Le « véritable » cantaloup est surtout présent sur les marchés européens.	
Melon "Cantaloup Noir des Carmes"	Variété avec une peau très côtelée vert foncé. La chair est sucrée et parfumée.	
Melon « Figaro »	Variété résistante aux maladies, pour culture sous abri ou de pleine terre. Il présente le grand avantage de ne pas avoir besoin de taille. Les fruits sont ronds, parfumés et de très bonne qualité gustative.	
Melon "Jaune Canari"	Variété hâtive type melon d'Espagne. Le fruit allongé et ovale présente une peau jaune et une chair croquante, sucrée et parfumée.	
Melon "Petit Gris de Rennes"	Variété pour culture en pleine terre. Les fruits sont petits et bien ronds avec une peau verte tachetée.	
Melon « Vert Grimant »	Variété nommée parfois "melon vert à rames". Très précoce il présente l'avantage de pouvoir être palissé facilement. Les fruits, bien verts, sont très juteux et parfumés.	
Melon "Vert Olive d'Hiver"	Variété espagnole parfois appelée vert de Noël. Les fruits de très longue conservation présentent une peau verte avec une chair jaune rosée, sucrée et parfumée.	

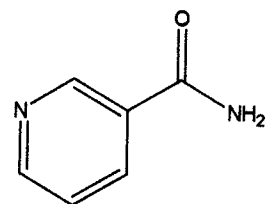
5-Propriétés et caractéristiques principales du melon

Le melon se caractérise par une grande richesse en eau, plus de 90 %, qui le rend particulièrement désaltérant. Peu énergétique, avec des glucides, il peut être recommandé en cas de surpoids ou de diabète. Sa teneur en fibres n'est pas très élevée [13].

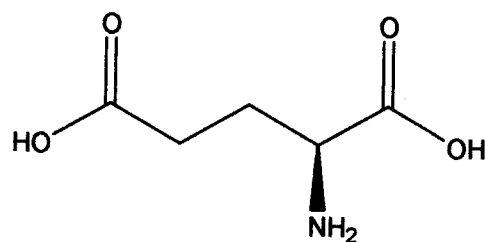
Parmi les fruits, il constitue l'un des meilleurs apports en bêta carotène (provitamine A) aux propriétés anti oxydantes : un quart de melon à chair orangée fournit 50 % de l'apport quotidien conseillé à un adulte. Il est riche en vitamine B9, particulièrement importante pour les futures mamans, et en vitamine C. De plus, le melon apporte un cocktail de minéraux et d'oligo-éléments (potassium principalement, phosphore, calcium, sodium, magnésium, fer, zinc, cuivre, manganèse, sélénium) [14]. Le melon est riche en vitamines B1, B3 et B6, ainsi vitamines E. Ce fruit a des atouts pour la santé à ne pas négliger : il soigne les rhumatismes, les hémorroïdes, l'arthrite et l'ensemble des maladies liées aux poumons [15].



Vitamine B1



Vitamine B3



L'acide glutamique

Figure 5: Structures de quelques composés présents dans le melon

Chapitre II : Les pépins du melon jaune canari

1-melon jaune canari

Ce melon de forme ovoïde est une superbe variété de forme ovale beaucoup cultivée en Espagne qui est originaire d'Inde et d'Afrique [9]. Il tient tout naturellement son nom de sa couleur jaune vif à écorce lisse ou ridée. La chair blanchâtre, qui devient orange saumon pâle autour des zones placentaires, est juteuse, sucrée mais peu parfumée, très résistante à la sécheresse [16]. La récolte du melon jaune canari s'effectue de juin à septembre. Il est mûr quand les feuilles jaunissent et que le pédoncule se détache [16]. Ce fruit à chair orange apporte une dose intéressante de caroténoïdes [16]. La consommation d'aliments renfermant les caroténoïdes, comme le melon qui est une excellente source de β -carotène, serait liée à un risque moindre de souffrir de certains cancers, ce qui confère à ce fruit un grand intérêt thérapeutique [16].

Tableau 1 : La composition chimique et la valeur nutritionnelle pour 100g de melon peu mûr [16].

Energie	6.2 à 23 Kcal	Potassium	300mg
Protides	1g	Carotènes	2mg
Lipides	0.2g	VitamineE (alpha tocophérol)	0.1mg
Glucides	5 à 18g	VitamineB1 (thiamine)	0.05mg
Fibres	1g	VitamineB2 (riboflavine)	0.03mg
Eau	90g	VitamineB3 (nicotionamide)	0.5mg
Fer	1mg	VitamineB5 (acide pantothénique)	0.2mg
Magnésium	20mg	VitamineB6 (pyridoxine)	0.07mg
Phosphore	30mg	VitamineB9 (acide folique, folates)	0.01mg
Sodium	15mg	VitamineC (acide ascorbique)	25mg

2-Les pépins de melon

Les graines des cucurbitacées sont également utilisées dans le domaine thérapeutique comme vermifuge non irritant et sans toxicité, ces graines sont trop riches en protéines, glucides et en lipides [17]. Tandis que l'huile extraite de ces graines posséderait des propriétés calmantes et cicatrisantes pour le tube digestif ainsi qu'une activité vivifiante et tonifiante sur les systèmes nerveux, ostéomusculaire et cardiovasculaire. Par ailleurs certaines huiles des cucurbitacées sont appréciées dans l'alimentation en raison de leur richesse en acide gras insaturés [18].

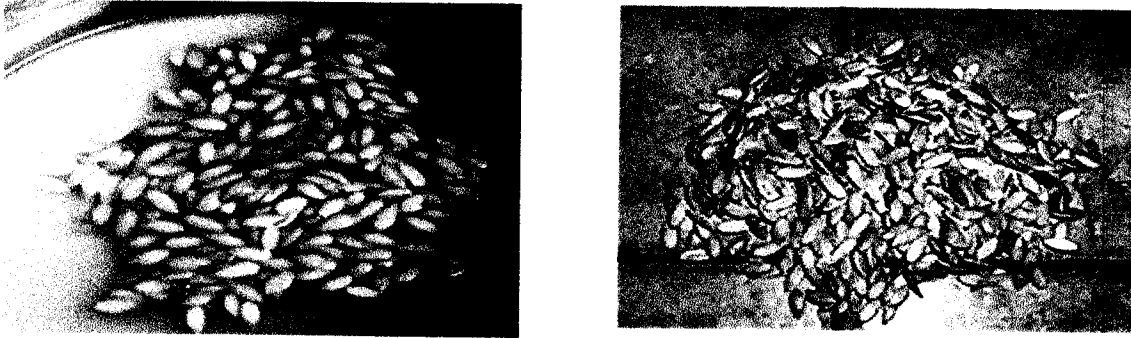


Figure 6 : Les pépins de melon

Les pépins de melon présentent beaucoup d'intérêts notamment pour l'activité antioxydante. A l'origine, le terme antioxydant était utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. Généralement, les antioxydants sont des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation pour combattre les effets toxiques des radicaux lors du stress oxydant [18].

Les pépins de melon contiennent également une grande quantité d'acides gras polyinsaturés [19], qui jouent un rôle important dans la prévention de maladies cardiovasculaires, les troubles inflammatoires et plus récemment les maladies neuro-dégénératives [20].

L'analyse par spectromètre d'absorption atomique, d'un gramme de cendres obtenues par calcination de la poudre des pépins de melon dans un four à moufle, montre que ces derniers sont riches en métaux essentiels pour l'organisme. Les résultats de cette analyse sont regroupés dans le tableau ci-dessus [21]:

Tableau 2 : Teneur en minéraux des pépins de melon

Elément	Teneur (%)
Cd	0,0002
Pb	0,0044
Cu	0,034
K	20,8
Mn	0,065
Mg	4,15
Ni	0,0037
Ca	2,26
Na	1,68
Fe	0,20
Zn	0,19

Les minéraux qui existent dans les pépins de melon sont pratiquement tous des éléments essentiels pour l'organisme, à l'exception du plomb et cadmium. Le potassium représente la valeur la plus élevée, ce qui montre une bonne valeur nutritive, car celui-ci participe au maintien de l'équilibre acido-basique du corps et aux transmissions de l'influx nerveux, comme il est essentiel aux contractions musculaires. Vient ensuite le magnésium en une quantité appréciable, cet élément intervient dans la régulation du rythme cardiaque, dans le fonctionnement des muscles et dans la transmission de l'influx nerveux. Le calcium est présent aussi en quantité considérable, ce dernier contribue à la formation des dents et des os.

3-Les huiles extraites des pépins de melon

Les huiles occupent une place considérable en pharmacie, industrie cosmétique ainsi que dans de nombreux secteurs de l'industrie agroalimentaire.

Les pépins de melon sont riches en lipide et représentent une teneur importante en matière grasse, extraite sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 31% par rapport à 16g de matière première [22].

3.1-Les propriétés physico-chimiques

Pour le contrôle de qualité de l'huile, on prescrit la détermination d'un certain nombre de constantes physiques : densité relative, indice de réfraction, ainsi une étude chimique qui concerne la détermination: d'indice d'acide, de peroxyde, d'iode et de saponification.

a-Propriétés chimiques [21]

Indice d'acide	Indice de peroxyde	Indice de saponification	Indice d'iode
4.01 mg KOH/g	2.25 meq d'O ₂ /kg	123.6 mg KOH/g d'huile	107.52 g I ₂ /100g d'huile

b-Propriétés physiques [21]

Indice de réfraction	Densité relative
1.47072	0.897

L'huile des pépins de melon possède un effet antioxydant qui peut subir une amélioration en lui ajoutant la vitamine E. La forte teneur en eau du melon permet une hydratation permanente de la peau lors des massages, en la protégeant des coups de chaleur et en garantissant un teint impeccable. L'huile extraite de grains de melon favorise également la régulation de la production de sébum par les peaux grasses et diminue l'apparition des acnés sur l'ensemble du corps, et surtout au niveau du visage. Ses bienfaits pour la peau sont exceptionnels [22]. Il est aussi important de mentionner que l'extrait de pépins de melon est riche en enzymes superoxyde dismutase (SOD) et catalase, puissants antioxydants agissant dans la première étape de formation des radicaux libres. Ils évitent notamment la création et la prolifération de nouveaux radicaux libres responsables des dégâts cellulaires [23-24].

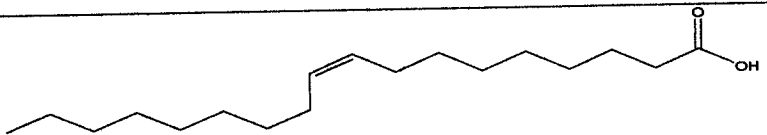
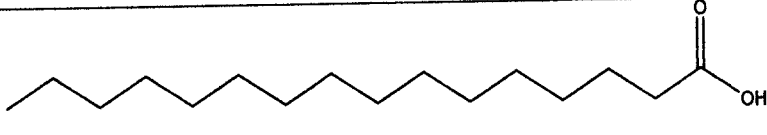
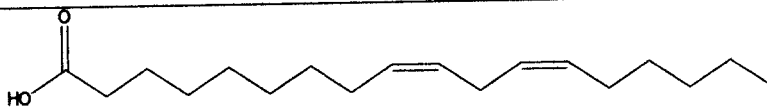
3.2-Les acides gras

Les acides gras sont les principales molécules constituant les corps gras ou lipides. Il existe une quarantaine d'acides gras différents parmi lesquels on distingue en particulier les acides gras essentiels, insaturés et saturés. Selon leur type, les acides gras jouent des rôles différents plus ou moins importants dans l'organisme. Ils représentent notamment une très grande source d'énergie pour les cellules du corps humain. Les acides gras proviennent en grande partie de l'alimentation. Certains acides gras peuvent aussi être synthétisés naturellement par l'organisme. Il existe deux types d'acides gras :

- **Les acides gras polyinsaturés (AGPI) :** La plupart des acides gras polyinsaturés peuvent être synthétisés par l'organisme, à l'exception de deux acides qui doivent être obligatoirement apportés par l'alimentation. On les appelle les acides gras essentiels. sont: l'acide linoléique ou Oméga 6 et l'acide alpha-linolénique ou Oméga 3. Ils interviennent dans tous les processus de reproduction et de croissance et la formation des cellules. Seuls les Oméga 3 interviennent dans la formation des membranes des cellules, dans celle de la rétine, dans l'intégrité de la peau, dans les fonctions rénales dans les réactions inflammatoires, allergiques, vasculaires [18].
- **acides gras saturés (AGS) :** Ils se trouvent surtout dans les graisses d'origine animale telles que le beurre, la crème fraîche, les fromages, le saindoux ou le lard. On les trouve également dans certaines huiles végétales tropicales comme l'huile de palme et dans les produits alimentaires fabriqués à partir de ces sources de gras comme les pâtisseries. Les apports en AGS ne doivent pas dépasser 25 % des apports en lipides. [18].

L'extraction des grains de melon donne une huile très légère. Elle pénètre rapidement la peau. La présence des acides gras dans la composition de cette huile, en particulier ceux du groupe oméga 3, garantit l'élasticité de la peau et diminue les irritations causées par les agressions extérieures. Cette huile contient aussi des oméga 6 qui favorisent un meilleur drainage de l'épiderme grâce à la régénérescence des lipides épidermiques et à la limitation des pertes en eau. En outre, les oméga 6 nourrissent et adoucissent la peau grâce à la présence de l'acide linoléique [25].

Tableau 3 : Les acides gras contenant dans les pépins de melon

Nom commun	Nom systématique	Structure
acide oléique	Acide cis-9-octadécénoïque	
Acide palmitique	acide hexadécanoïque	
acide linoléique	acide 9(Z),12(Z)-octadécadiénoïque	

Chapitre III : Les méthodes d'extractions

L'extraction est une méthode qui consiste à isoler une substance d'un solide à l'état pur, ou d'une solution par contact avec un solvant qui dissout sélectivement le produit désiré. L'extraction représente fréquemment la première étape permettant d'isoler un composé organique contenu dans les plantes, les feuilles séchées ou les écorces de bois [26].

1- Extraction par macération

La macération est un procédé discontinu qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante, chaud ou à l'ébullition, pour en extraire les constituants solubles, après filtration, le résidu peut être remis dans le récipient d'extraction avec une nouvelle portion de solvant. Au besoin, le processus est répété plusieurs fois mais il n'est pas toujours efficace. La quantité de solvant nécessaire est environ dix à vingt fois la masse d'échantillon traité [27].

2- Extraction par Hydro distillation

L'extraction par hydrodistillation c'est une technique d'extraction qui nécessite l'eau comme solvant. C'est une méthode utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation [28]. L'hydro distillation consiste à immerger directement le matériel végétal (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes (eau + huile extraite) sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont :

- la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle [29]
- La modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation [30]

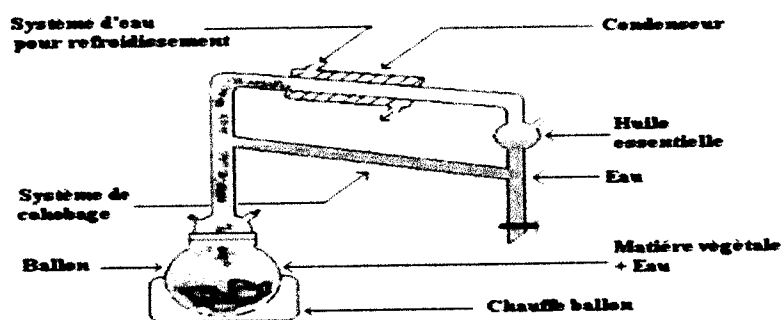


Figure 7 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile [31]

3- Extraction par distillation à la vapeur

C'est la «vapo-hydrodistillation» à la vapeur saturée, qui représente le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques [32]. Le matériel végétal, dans ce cas, n'est pas en contact avec l'eau, il se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers la plante en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée sont appelées eau florale ou hydrolat [33].

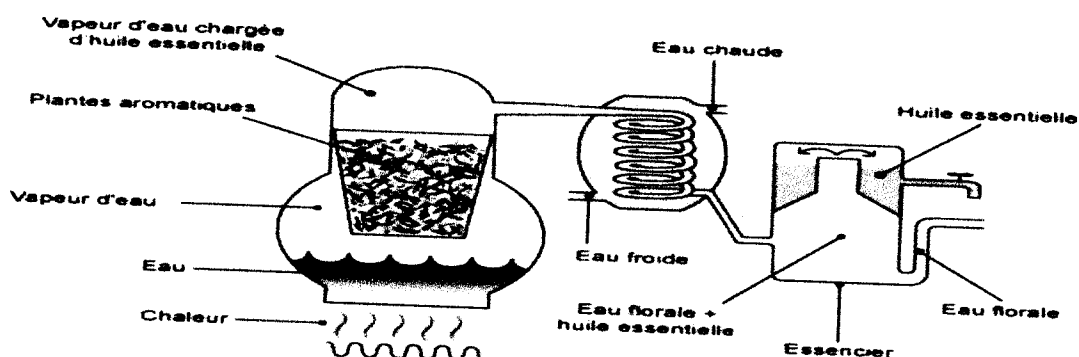


Figure 8 : Appareillage de distillation à la vapeur (entraînement à la vapeur d'eau) [34]

4- Technique d'extraction au CO₂ supercritique

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé : il s'agit du CO₂ en phase supercritique. À l'état supercritique, le CO₂ n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO₂ sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux. Cependant son installation industrielle reste onéreuse, et l'appareillage est encore envahissant [35]. Le solvant après une étape de refroidissement et de pressurisation, est porté en conditions supercritiques. Le CO₂ supercritique percole dans l'extracteur contenant la matière à extraire, avec un flux ascendant ou descendant suivant les installations. La séparation du mélange extrait-CO₂ supercritique a lieu par dépressurisation du CO₂ supercritique dans un séparateur. Cette étape permet de récupérer d'une part l'extract et d'autre part, le CO₂ gazeux. A la suite de cette étape, le CO₂ est recyclé dans l'installation.

Le véritable inconvénient de cette technique est le coût initial élevé de l'équipement car certains procédés exigent une pression importante (250 bars) [35].

Les avantages de cette méthode :

- Le CO₂ est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et peu coûteux.
- On utilise des basses températures pour sa mise en œuvre.
- Les frais de fonctionnement, à l'échelle pilote ou de laboratoire, sont réduits (le CO₂ est continuellement recyclé).

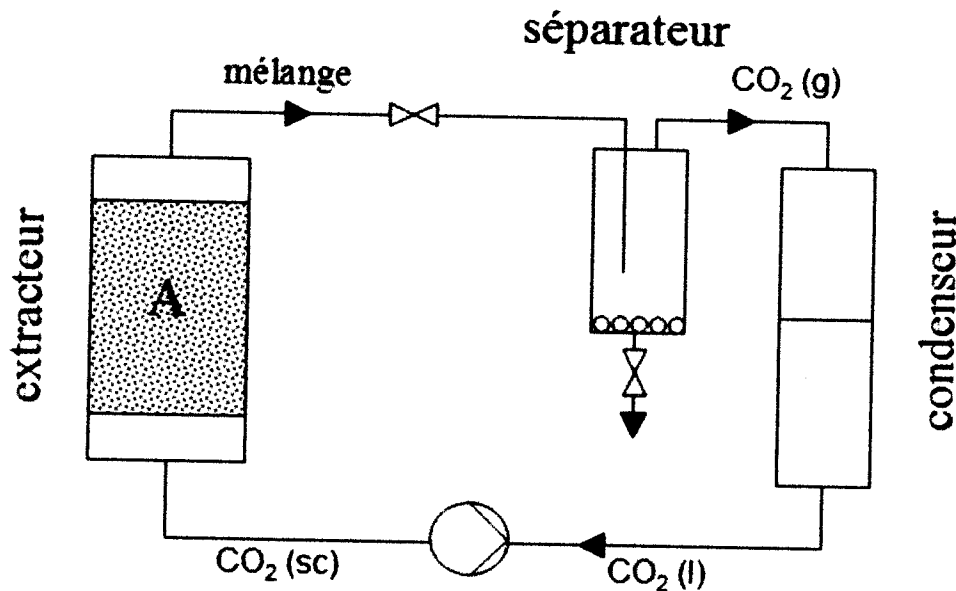


Figure 9 : Appareillage utilisé dans l'extraction par CO₂ supercritique

5- Extraction assistée par micro-onde

Les rayonnements micro-ondes sont des ondes électromagnétiques qui se propagent dans le vide à la vitesse de la lumière. Elles sont caractérisées par une fréquence comprise entre 300 MHz et 30 GHz, c'est-à-dire par une longueur d'onde comprise entre 1 m et 1 cm. Sur le spectre électromagnétique, elles sont situées entre les radiofréquences et les infrarouges [36]. Parmi les technologies d'extraction les plus prometteuses, l'extraction par micro-ondes, est l'une des méthodes les plus récentes pour l'extraction de molécules d'intérêt biologique avec un impact environnemental positif: moins d'énergie et moins de solvants. En effet, depuis 1960, cette technologie est bien implantée dans des domaines variés comme: la synthèse organique [36,37], l'environnement [38,39], l'agroalimentaire [40,41], le séchage

[42] et l'extraction [36,43]. Les premiers travaux utilisant les micro-ondes pour extraire des composés organiques ont été publiés en 1986. Depuis cette date, les micro-ondes sont de plus en plus utilisées dans le domaine de l'extraction des produits végétaux [44].

La technologie de l'extraction par microonde grâce à un chauffage volumique et sélectif paraît être une alternative intéressante puisqu'elle autorise l'utilisation réduite de solvant, des temps de traitement plus courts ainsi des rendements plus élevés [45].

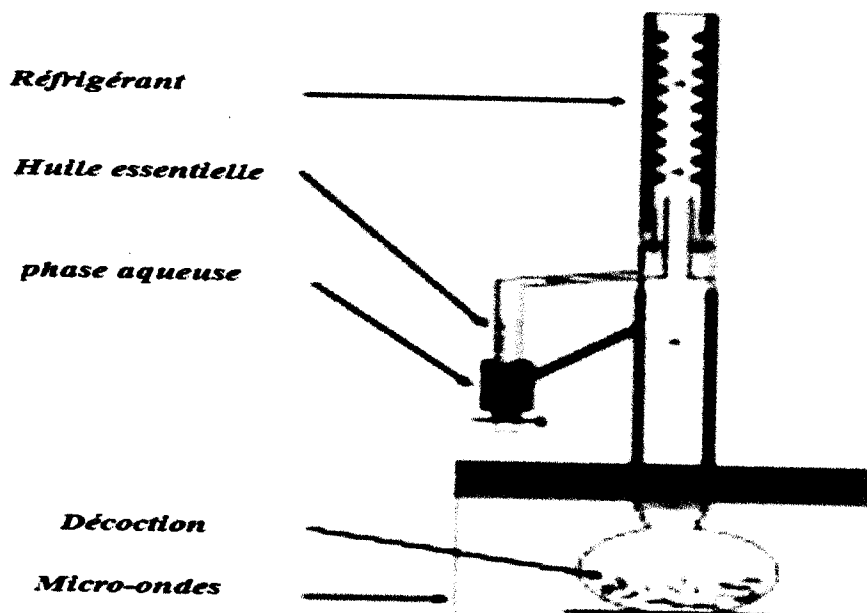


Figure 10 : Appareillage d'extraction par micro-onde [46]

6-Extraction par Soxhlet (par percolation)

L'extraction par Soxhlet consiste à faire passer le solvant à travers la matière végétale contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant du solvant pur, distillé à chaque cycle. Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale [47], mais elle est aussi utilisée pour l'extraction de lipides [48], ou d'autres catégories de molécules. De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes [49] et aux ultra-sons [50]. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation du solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant les substances dissoutes [51].

Avantages :

- ✓ le solvant reste frais puisque le cycle se répète plusieurs fois.
- ✓ Aucune nécessité de filtration après l'extraction.

Inconvénients :

- ✓ Le temps d'extraction est long, il est impossible d'accélérer le processus par agitation.
- ✓ Une grande quantité de solvant est nécessaire, exige par la suite une étape d'évaporation.

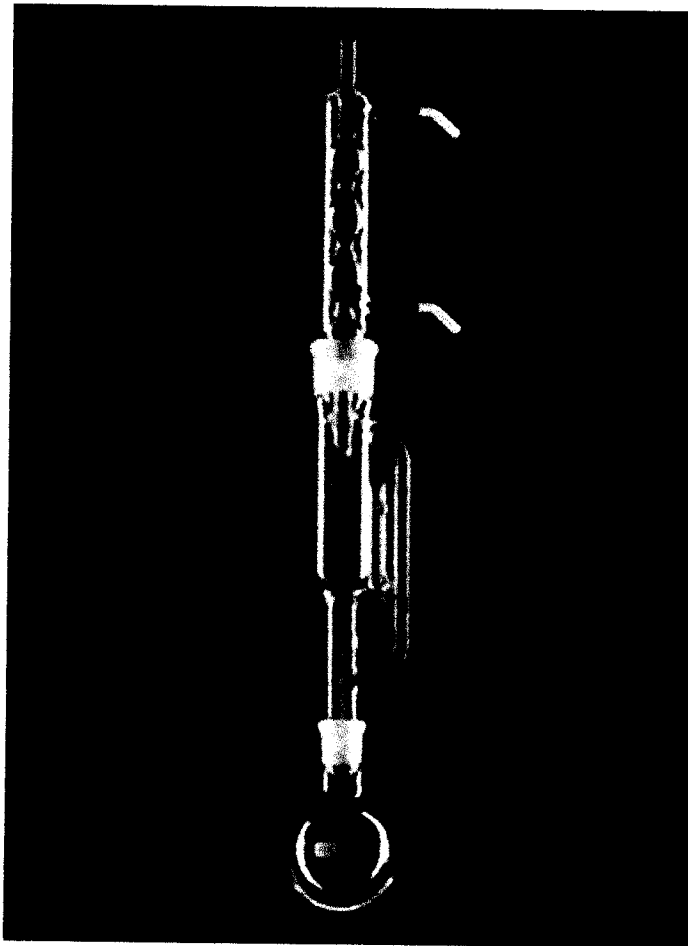


Figure 11 : Appareillage d'extraction par le soxhlet

Chapitre IV : Les polyphénols et l'activité antioxydante

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes. On distingue deux classes de métabolites [52].

1-Les métabolites végétaux

a- Métabolites primaires : sont des métabolites directement impliqués dans la croissance, le développement et la reproduction normale des cellules, d'un organisme. Ce sont les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire (cellulose) ; les lipides, membranes cellulaires ; les acides aminés, source primaire de construction des protéines.

b- Métabolites secondaires : sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits [53]. L'incorporation de ces composés dans l'alimentation humaine peut être utile pour la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections virales...), car la différence entre toxicité et effet bénéfique est généralement soit dose ou structure [54]. Ces métabolites secondaires sont repartis en trois grandes familles chimiques.

- Les terpénoïdes et stéroïdes
- Les composés azotés ou alcaloïdes
- Les polyphénols

2-Les composés phénoliques ou les polyphénols

Les polyphénols sont caractérisés, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire [55]. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, ils ont beaucoup de fonctions différentes dans les différentes espèces de plantes: défense contre les pathogènes, molécules de dissuasion alimentaire, attraction des pollinisateurs, protections des rayonnements UV, molécules qui donnent couleur, arômes, parfums aux plantes, rôle structurel (ex : lignine, constituante du bois). Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du

cancer [53], des maladies inflammatoires [54], cardiovasculaires et neurodégénératives [56]. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [57].

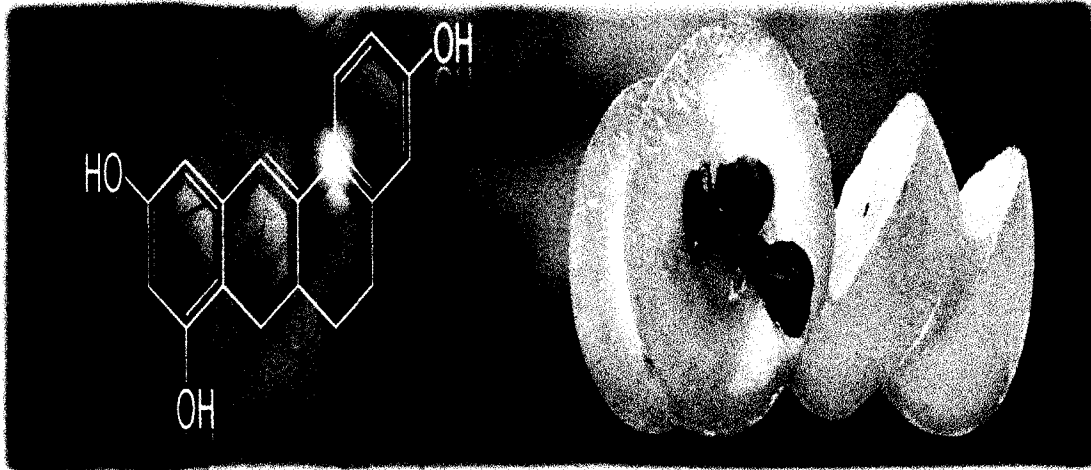
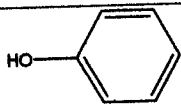
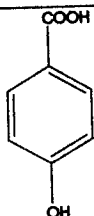
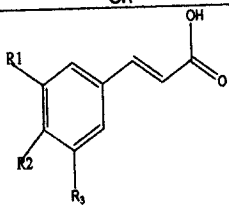
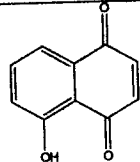
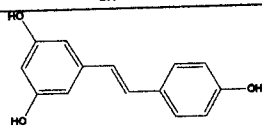
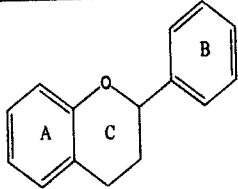
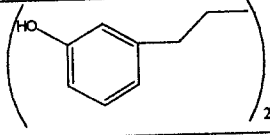
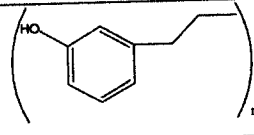
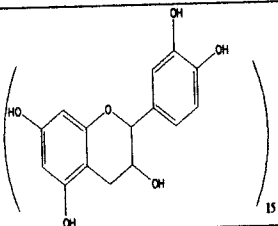


Figure 12: Structure d'un polyphénol provenant des fruits.

2.1-La classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base allant d'un simple C_6 à des formes très polymérisées. Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, de méthylation,...etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules avec d'autres (glucides, lipides, protéines) [56].

Tableau 4 : Classification des composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemples	Origine
	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acide caféique, féruque Scopolétine, esculétine	Citron, pomme
	Naphtoquinones	Juglone	Noix
	Stilbènes	Resvératrol	Raisin rouge
	Flavonoïdes ➤ Flavonols ➤ Anthocyanes ➤ Flavanols ➤ Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine,	Fruits, légumes, fleurs fruits rouges, Pomme, raisin, Soja, pois
	Lignanes	Pinorésinol	Pin
	Lignines		Bois, noyau des fruits
	Tannins		Grenade, Kaki

3-L' activité antioxydante

Les cellules et les tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé par la production de radicaux dérivés de l'oxygène [58].

3.1-Définition

Une molécule antioxydante est une substance chimique naturelle ou synthétique qui empêche ou inhibe les réactions d'oxydation de type radicalaire. Ces composés font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme conservateurs dans les denrées alimentaires, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies [59]. C'est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres.

3.2-Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié [60]. Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre [61]. Ces espèces radicalaires sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, conduit à un stress oxydatif qui est un déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [62]. Ce déséquilibre est à l'origine de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons et l'eau et les aliments que nous consommons, les rayons ultraviolets du soleil, la fumée de tabac et les exercices excessives sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système [63]. En raison de leur capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes, les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques. La conséquence de ce déséquilibre est que tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN [64-65]. Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies [66]. Parmi ces maladies, nous citons, les

maladies d'Alzheimer [67], de Parkinson [68] de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites, [69] maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque [70], les œdèmes, vieillissement prématuré de la peau [71] et le cancer [69].



Figure 13 : Une cellule avec stress oxydatif

3.4-Les différents types de radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées, on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxyde (RO^{\cdot}). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [63].

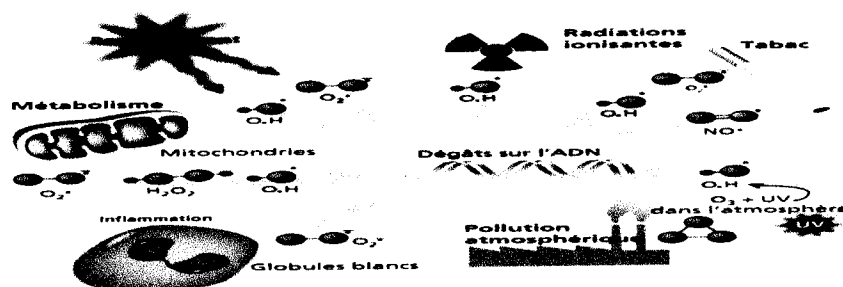


Figure 14 : Les sources des radicaux libres et leurs dégâts

3.5-Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action

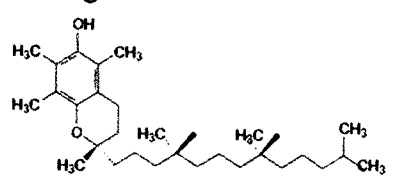
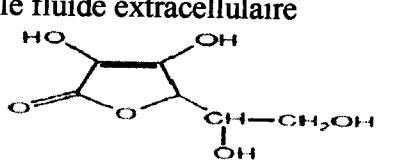
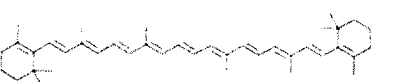
Tableau 5 : Les antioxydants selon leur mécanisme d'action

Groupe I	Plusieurs noms ont été attribués à ce groupe par exemple, antioxydants primaires, piègeur des radicaux libres. Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. [72]
Groupe II	Les composés de ce groupe sont catalogués comme préventifs ou antioxydants secondaires. Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Le groupe II inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydantes et destructeurs des hydroperoxydes. [73]

3.6-Classification des antioxydants suivant la nature chimique

3.6.1-Les antioxydants naturels : L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif. [74]

Tableau 6 : Classification des antioxydants selon leur nature chimique

Les antioxydants enzymatiques [75]		Les antioxydants non enzymatiques [76]	
Les superoxydes dismutases (SOD)	<p>cette famille comporte trois isoformes (SOD1, SOD2, SOD3) dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H_2O_2 et O_2.</p> $2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$	La vitamine E	<p>Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles.</p>  <p>Vitamin E (α-tocophérol)</p>
Les catalases	<p>Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes</p> $2H_2O_2 \xrightarrow{Catalase} 2H_2O + O_2$	La vitamine C (acide ascorbique)	<p>La vitamine C ou acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble majeur elle se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire</p> 
		La β -carotène	<p>Est apporté par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités : elle est précurseur de la vitamine A, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation.</p> 
Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX)	<p>Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools.</p> $H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSG$ $ROOH + 2GSH \xrightarrow{GPx} ROH + H_2O + GSSG$	Les oligoéléments	Sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant.
		Les composés phénoliques issus des végétaux	Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives
		Glutathion	Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation.

3.6.2. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels [77].

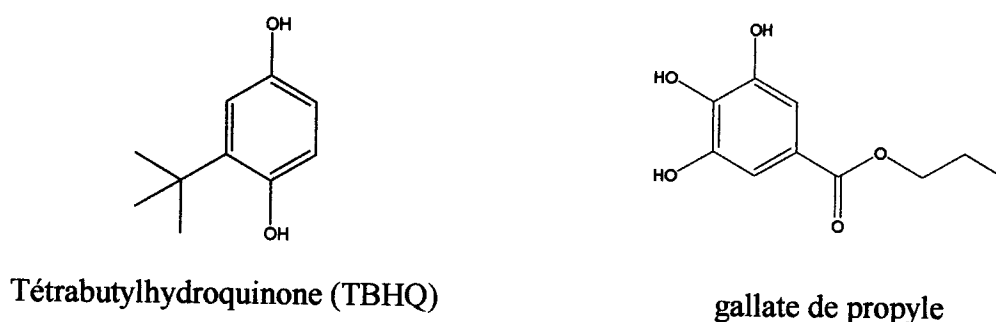


Figure 15: Structures des antioxydants de synthèse

3.7- Les méthodes de la détermination de l'activité antioxydante

a)- Réduction du fer (FRAP) :

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, évalue la réduction du fer (le passage de la forme ferrique à ferreux) en présence d'un antioxydant [78]. Une molécule change de couleur une fois qu'elle est réduite, ce qui permet la quantification par spectrophotométrie (UV-visible). C'est une méthode simple, rapide, peu coûteuse et robuste. En revanche, cette méthode n'est pas capable de détecter les protéines ou les composés contenant les thiols (SH), qui peuvent transférer l'hydrogène. Pour cette raison, le test FRAP sous-estime souvent l'activité antioxydante du sérum sanguin [79].

b)- Test de blanchiment de β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique :

Le β -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique. Dans l'industrie agro-alimentaire, il est utilisé dans les boissons comme un agent de coloration et sa décoloration indique la réduction de qualité de ces produits [80]. Cependant, dans le test du blanchiment du β -carotène, la présence des 11 paires de doubles liaisons rend le β -carotène extrêmement sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes qui sont formés à partir de l'oxydation d'acide linoléique dans un système (sous forme d'émulsion aqueuse) en résultant le blanchiment du β -carotène [81]. La présence

des antioxydants comme les polyphénols réduisent l'ampleur de la destruction du β -carotène en neutralisant les hydroperoxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système.

c)- La méthode par le radical DPPH :

Cette méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH de coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte. La mesure de la décroissance de coloration violette au cours du temps permet de déterminer l' IC_{50} , temps au bout duquel 50% de coloration est perdue [81].

Généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (IC_{50}), (des comparaisons d' IC_{50} sont réalisées), le résultat est dépendant de la concentration en DPPH initiale. En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode, en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox (antioxydant) [84]. Cette méthode est très utilisée pour étudier des extraits végétaux et alimentaires pour mesurer la capacité antioxydante totale.

Partie expérimentale

I-Matériel et méthodes

1- Matériels et instruments

<i>Appareils</i>	<i>Caractéristique</i>
Rotavapeur	BUCHI R-200
UV-visible	Thermo spectronic Helios Gama
Etuve	Memmert Modell 600
Balance analytique	KERN 870 , d=0,0001g , m _{max} =303g
Soxhlet	NS 45/40 W-Germany

2-Matériel végétal

Les pépins de melon ont été recueillis à partir du fruit melon de la région de Tlemcen en mois de septembre, rincés avec de l'eau et sécher à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant une quinzaine de jours, afin de préserver au maximum l'intégrité de l'espèce. Cette matière végétale est ensuite broyée grossièrement dans un moulin électrique et conserver dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et l'humidité pour des analyses ultérieures.

3-Préparation des extraits

2.1. Principe d'extraction par soxhlet

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique, permet une extraction continue d'un solide par un solvant. Il se compose d'un corps en verre dans lequel est placée une cartouche, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction. Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Les résidus à extraire sont placés dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de ce premier. Celui-ci, condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles [82].

Une prise d'essai de 11g du matériel végétal a été extraite dans 150 ml de solvant (méthanol, éthanol, éthanol-eau (50 :50), eau) pendant 6 heures. L'extrait obtenu a été

éaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, séché et stocker dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment du test.

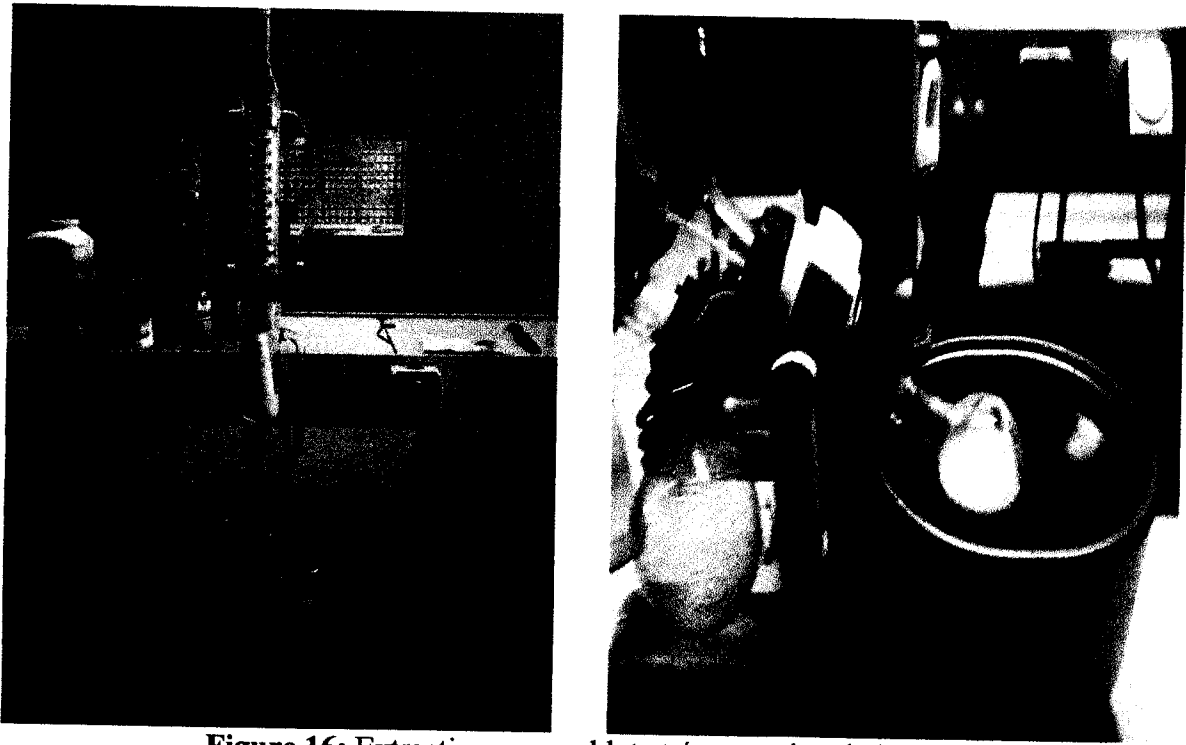


Figure 16: Extraction par soxhlet et évaporation de l'extrait

2.2. Principe d'extraction par macération

La macération est une technique simple d'extraction, qui consiste un séjour à froid d'une substance végétale dans un solvant à température ambiante et sous agitation, afin d'extraire les constituants solubles [82].

Une prise d'essai de 11g a été mise à macérer dans 150 ml de solvants (méthanol, éthanol, eau-éthanol (50 :50), eau) pendant 6 heures. Le mélange obtenu est ensuite filtré et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait brut a été stocké dans le réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment du test.

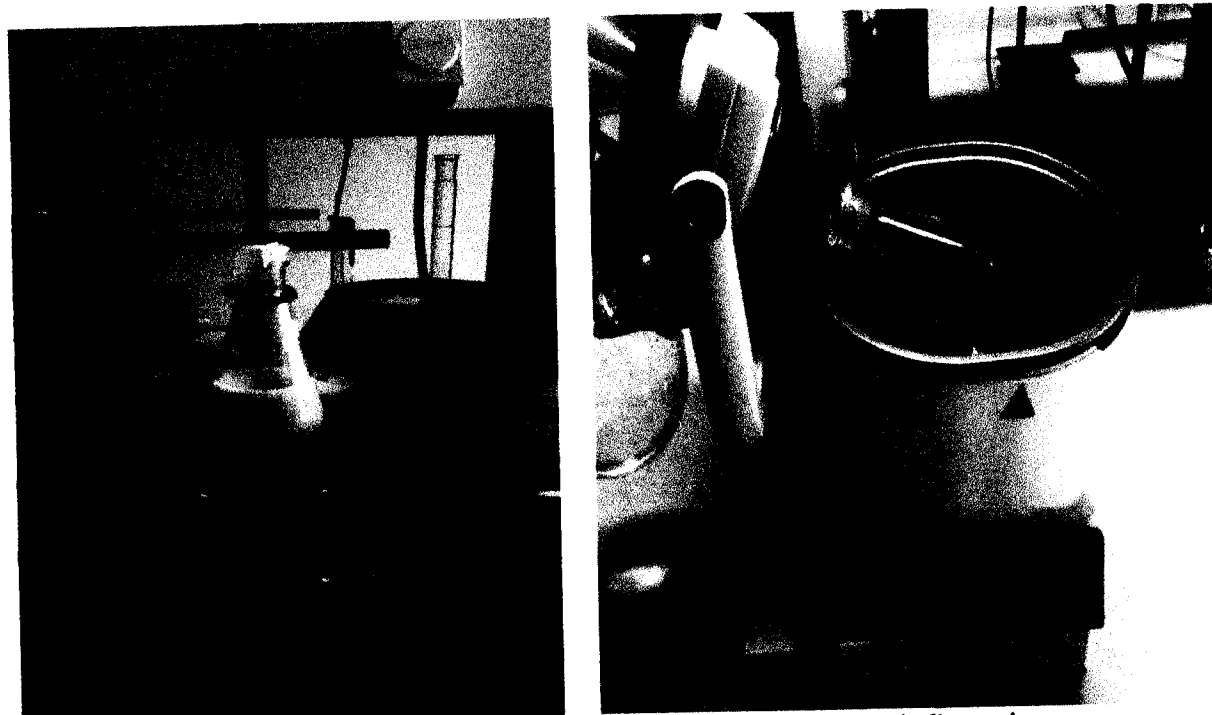


Figure 17: Extraction par macération et évaporation de l'extrait.

II-Dosage des polyphénols totaux

1. Principe

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des phénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin Ciocalteu est la plus utilisée. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxydes bleus (de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{23}). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé [83].

2. Protocole

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie (UV-visible), suivant deux protocoles :

Protocole 1 : 2,5 ml d'une solution de l'extrait (0,1mg/ml) a été mélangé avec 25 ml d'eau distillée, 1,5 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (0,2g/ml) et 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1N). L'absorbance a été mesurée à 765 nm, après incubation d'une heure à

température ambiante. La courbe d'étalonnage a été effectuée par l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes du dosage [84]. Toutes les mesures ont été répétées 3 fois.

Protocole 2 : 0,5 ml de l'extrait (0,1mg/ml) a été mélangé avec 5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu diluée au 1/10^{ème} avec l'eau distillée et 4 ml de carbonate de sodium (1M). Après incubation de 15 minutes à température ambiante, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 765 nm. La courbe d'étalonnage a été obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations (de 50 à 250 mg/l) de solution d'acide gallique [85].

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$C = c \cdot V / m$$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique / g d'extrait).

c : concentration d'acide gallique (mg/l).

V : volume de l'extrait (l).

m : masse de l'extrait pur (g).

III- Tests biologiques

1. L'activité antioxydante par la méthode de DPPH

a- Principe

L'activité antiradicalaire des composés isolés des substances naturelles est mesurée par leurs capacités de piéger le radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-pyridyl-hydrazyl) et en fonction de sa couleur violette foncée qui se transforme en jaune lors de sa réduction [86].

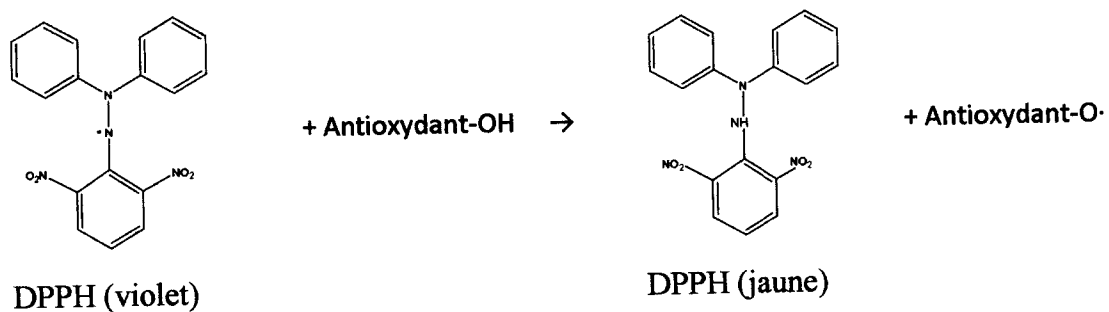


Figure 18: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

b-Protocole

Une solution du DPPH à 63,4 μ M (25 mg dans 100 ml de méthanol) est préparée à l'avance (au moins 1-2 heures), pour une période d'au moins 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité. Chaque composé phénolique a été dissous dans l'éthanol. Des volumes de 0,1 ml de la solution à tester ont été mélangés avec 3,9 ml de la solution du DPPH. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes. L'absorbance est mesurée après 30 minutes d'incubation à 515 nm [86].

Afin d'explorer les résultats expérimentaux obtenus, il est nécessaire de calculer les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH \cdot selon la formule suivante :

$$\%(\text{DPPH}\cdot) = [(\text{AC} - \text{AT}) / \text{AC}] * 100$$

- AC: Absorbance du control qui est égale à 0,722.
- AT : Absorbance du test effectué.

2. L'activité antibactérienne

a-Principe

L'activité antibactérienne des extraits était testée in vitro par la méthode de diffusion sur gélose. Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, l'application de patches imprégnés de principes actifs sur des milieux de culture ensemencés de microorganismes. L'activité antibactérienne, quand elle était présente, se manifestait alors par des zones d'inhibition autour des disques [87].

b-Protocole

Des disques (patches) de 6 mm de diamètre ont été découpés sur du papier Wattman n°1 puis autoclavés dans 10 ml d'eau distillée à 120°C pendant 20 min. Les microorganismes apportés sous forme de suspensions ont été normalisés à 10⁸ UFC / ml pour les bactéries et pour les levures. Ceci en mettant 0,2 ml de chaque suspension apportée dans 20 ml de bouillon nutritif dans le cas des bactéries et 20 ml de bouillon Sabouraud dans le cas des levures. L'incubation s'est faite à 37°C pendant 24 H. Les concentrations microbiennes des inoculums ont été évaluées et exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm) à l'aide d'un spectrophotomètre Shimadzu. Les microorganismes ont été ensemencés par étalement sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Muller-Hinton pour les bactéries et la

gélose Sabouraud pour les levures. Les disques ont été ensuite imprégnés chacun par 10 µl de principe actif (extrait) et déposés sur la surface des géloses. Comme témoin nous avons utilisé des disques industriels d'ampicilline (1µg d'antibiotique par disque). Pour les bactéries, l'incubation s'est faite à 37°C pendant 24 H et pour les levures, à 28°C pendant 48 H [87]. Les mesures ont été répétées deux fois.

Résultats

et

discussion

1-Influence du type de solvant et la méthode d'extraction

Des essais d'extraction de composés phénoliques ont été effectués avec différents solvants. Le choix du solvant a été conditionné par le caractère polaire des composés phénoliques présent dans les pépins de melon. La solubilité des polyphénols est étroitement liée au degré de polymérisation en raison de l'augmentation de nombre de groupe hydroxyles.

Les résultats des extractions effectuées sont présentés dans le tableau ci-dessous par rapport à 11g de matière sèche des pépins de melon.

Tableau 7: Les rendements d'extractions

solvants	Méthodes	Aspects	Rendements %
Ethanol	Macération	Solide Jaune pale	16,8
	Soxhlet	Huile Verte claire	15
Eau-éthanol (50-50)	Macération	Pâteux Miel	6,81
	Soxhlet	Huile visqueuse miel	18
Eau	Macération	Pâteux Marron	47
	Soxhlet	Pâteux Marron	44
Méthanol	Macération	Solide Jaune	16
	Soxhlet	Huile Miel	20

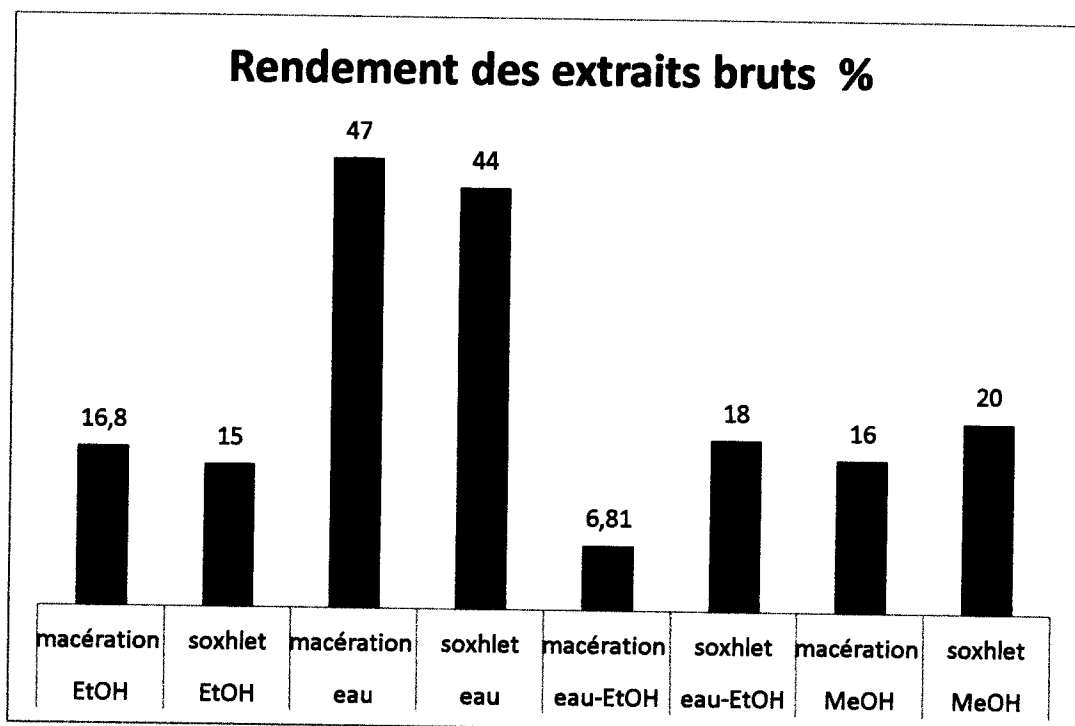


Figure 19: Histogramme des rendements d'extractions

D'après les résultats représentés sur l'histogramme, le meilleur rendement est obtenu avec l'eau par les deux techniques d'extractions. Pour les solvants alcooliques et hydro-alcooliques le rendement du soxhlet est supérieur à celui de la macération. L'extraction par soxhlet est une méthode basée sur le chauffage, facteur important dans l'augmentation de la solubilité des composés chimiques. L'éthanol donne des rendements presque proches avec les deux techniques.

2-Estimation quantitative des polyphénols totaux

Les quantités de composés phénoliques totaux dans les extraits ont été déterminées par spectrométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Pour estimer cette quantité dans les extraits, nous avons établi une courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations à l'aide d'un programme Excel. La teneur des polyphénols est exprimée en μg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait brut (μg EAG/g d'extrait).

a-Estimation quantitative des polyphénols selon le premier protocole :

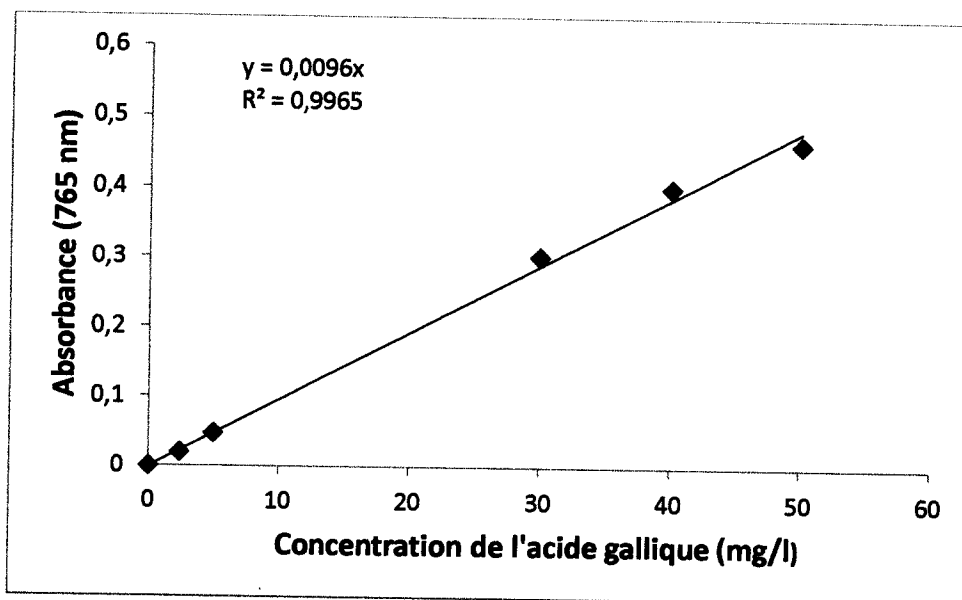


Figure 20: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (méthode 1)

Tableau 8: La teneur en phénols des différents extraits

Extraits	Méthodes	Teneur en polyphénols totaux $\mu\text{g EAG/g d'extract}$
Ethanolique	Macération	293,64
	Soxhlet	279,35
Aqueux	Macération	89,33
	Soxhlet	299,04
Extrait (eau-éthanol)	Macération	532,64
	Soxhlet	535,79
Méthanolique	Macération	69,44
	Soxhlet	125,71

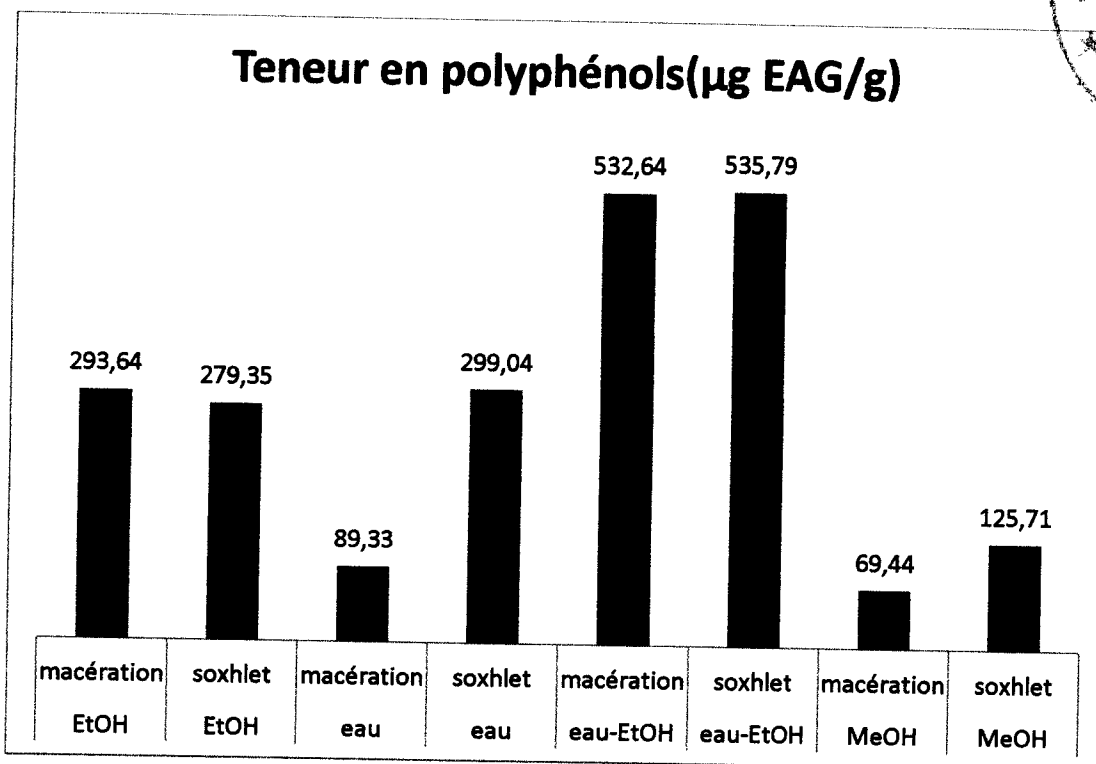


Figure 21: Histogramme des teneurs en polyphénols des extraits

Le pourcentage des polyphénols le plus élevé a été obtenu dans les extraits eau-éthanol avec macération et soxhlet : 532.64 µg/g et 535.79 µg/g respectivement, par contre la plus basse valeur est celle obtenue avec le méthanol par macération (69.44 µg/g). Selon ces résultats, on constate que la tendance, d'extraire plus de composés phénoliques, est beaucoup plus meilleure avec le mélange eau-éthanol qu'avec les solvants purs. Il est à noter aussi que l'éthanol pur est meilleur solvant que l'eau, l'éthanol solubilise correctement les composés phénoliques moyennement polaires. L'addition de l'eau aux systèmes d'extraction fait améliorer le rendement en composés phénoliques glycosylés et des phénols avec un degré de polymérisation plus élevé [84]. D'autre part, l'augmentation de l'eau dans le système de solvant d'extraction fait extraire en quantité importante les composés non phénoliques comme les glucides et les protéines, susceptibles de polymériser avec les composés phénoliques ce qui conduit à la formation des complexes qui ne sont pas détectés par le test utilisé.

En plus, les extraits obtenus par le soxhlet ont une teneur en polyphénols plus élevée que les extraits obtenus par macération, donc le chauffage joue un rôle très important dans l'extraction des polyphénols.

En se basant sur les résultats du tableau représenté ci-dessus, nous pouvons dire que la méthode d'extraction avec soxhlet en utilisant un mélange eau-éthanol ou éthanol pur est la plus efficace pour l'extraction des polyphénols.

b-Estimation quantitative des polyphénols selon le deuxième Protocole:

La quantité des polyphénols totaux a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage suivant les mêmes étapes décrites précédemment.

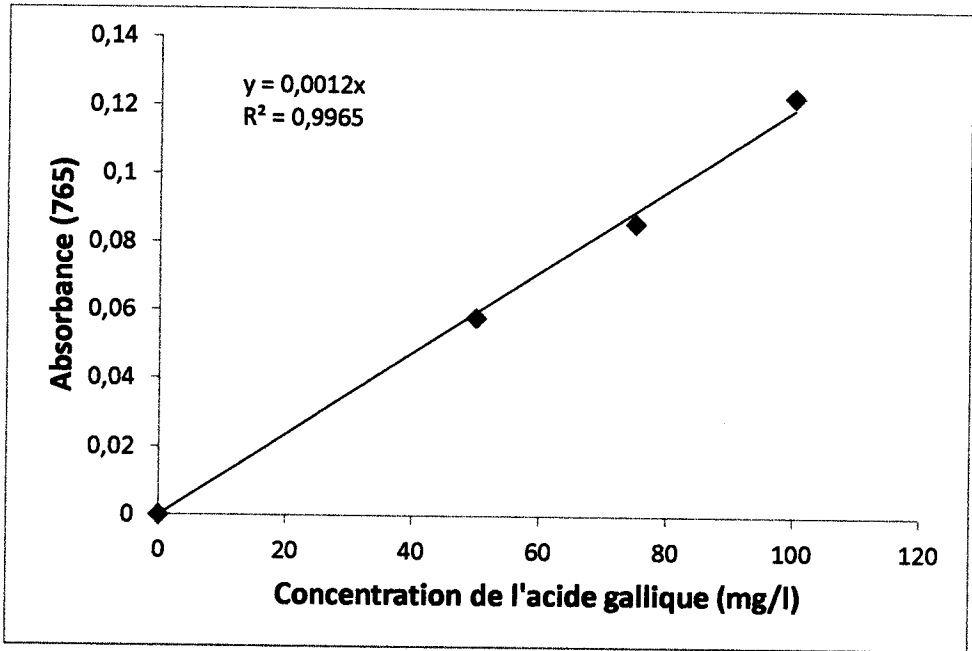


Figure 22: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (méthode 2)

Tableau 9: La teneur en phénols des différents extraits

Extraits	Ethanolique		méthanolique	
	Macération	Soxhlet	Macération	Soxhlet
Teneur des phénols totaux µg/g	346,82	565,02	238,93	298,18

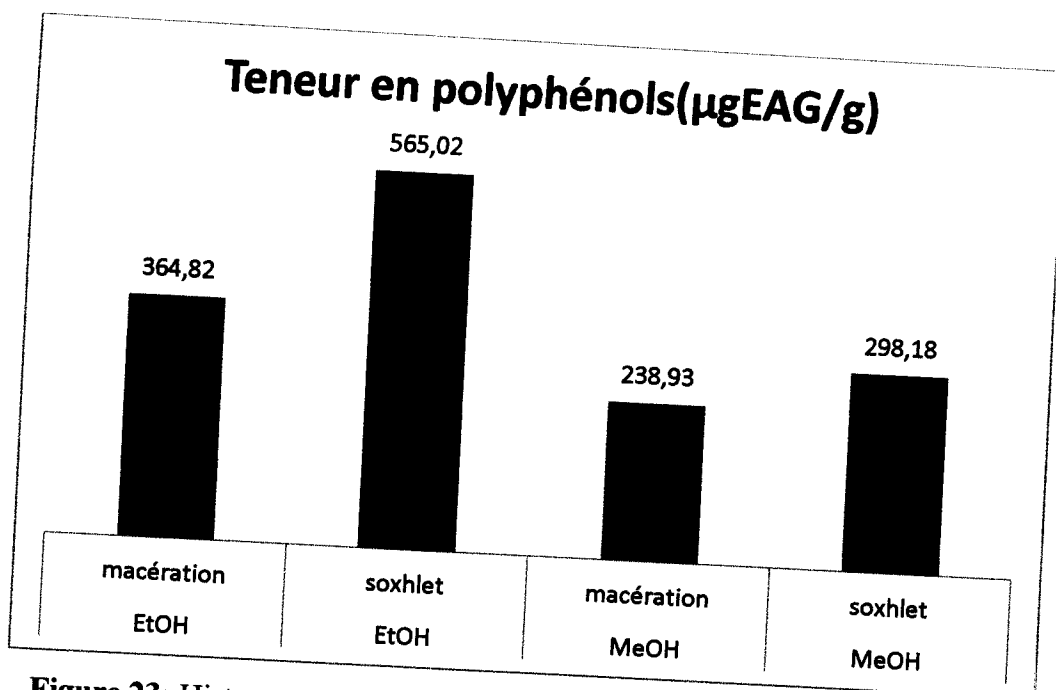


Figure 23: Histogramme des teneurs en polyphénols des extraits alcooliques

La valeur la plus élevée a été obtenue avec l'extrait éthanolique par la technique de soxhlet ($565.02 \mu\text{g/g}$) et la valeur la plus basse est celle de l'extrait méthanolique par la technique de macération ($238.93 \mu\text{g/g}$), ce qui confirme les résultats décrits précédemment.

De plus la technique d'extraction avec soxhlet est de nouveau la méthode qui donne le meilleur pourcentage en composés phénoliques.

D'après ces résultats, l'extraction des composés phénoliques à partir des pépins de melon donne des valeurs prometteuses lorsqu'elle est réalisée avec l'éthanol, comme solvant, et par percolation (extraction par soxhlet).

3-Evaluation des activités biologiques

3.1-Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

Le radical libre DPPH a permis l'estimation de l'activité antioxydante des extraits obtenus. C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les extraits testés. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité antiradicalaire de l'extrait, et dépend de la nature, la concentration et la teneur des antioxydants de cet extrait.

Tableau 10: Les résultats de l'activité antioxydante des extraits

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Inhibition (%)	Valeur d'IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait méthanolique macération	0,07	10,05	$y = 26,875x + 8,1688$ $R^2 = 1$ 1,55
	0,15	12,2	
	0,25	12,7	
Extrait méthanolique soxhlet	0,07	26,7	$y = 345,77x$ $R^2 = 0,9736$ 0,14
	0,15	50,7	
	0,25	56,5	
Extrait éthanolique macération	0,07	9,4	$y = 62,735x$ $R^2 = 0,9596$ 0,80
	0,15	10,05	
	0,25	15,3	
Extrait éthanolique soxhlet	0,07	22,3	$y = 167,65x$ $R^2 = 0,9804$ 0,30
	0,15	23,5	
	0,25	42,9	

En fonction de ces résultats, il est extrêmement important de souligner l'existence d'une corrélation positive entre le potentiel de l'activité antioxydante et la quantité de composés phénoliques dans les extraits. De même l'extrait méthanolique obtenu par la technique de soxhlet possède une grande activité antioxydante, cette activité est due à la présence des polyphénols d'un côté et d'autre antioxydants d'un autre côté. En effet, cet extrait est une huile qui peut contenir des lipides (des acides gras polyinsaturé) qui peuvent avoir une activité antioxydante. En outre, l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet peut être attribuée à sa teneur en polyphénols relativement élevée (565,02 µg/g). Toutefois, les composants responsables des activités antioxydantes des extraits n'ont pas été identifiés et des travaux supplémentaires devraient être menés pour identifier et isoler ces composés bioactifs.

3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

Dans ce travail, sept souches microbiennes et une espèce de champignons ont été utilisées pour tester les activités antibactériennes des extraits obtenus. Les résultats ont montré une forte activité avec une zone d'inhibition > 15 mm, une activité modérée avec une zone d'inhibition <15-12 mm et faible activité avec une zone d'inhibition <12 mm.

Tableau 11: Les zones d'inhibitions des extraits

Extraits	Le diamètre des zones d'inhibitions des extraits (mm)			
	Méthanolique Macération	Méthanolique Soxhlet	Ethanolique Macération	Ethanolique Soxhlet
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	9	7	10
<i>Micrococcus luteus</i>	20	14	7	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	17	8	9	-
<i>Bacillus cereus</i>	14	13	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	8	8	10
<i>Escherichia coli</i>	13	8	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	15	10	-
<i>Candida albicans</i>	25	20	-	-

L'extrait méthanolique obtenu par macération possède une forte activité avec les bactéries suivantes (*staphylococcus aureus*, *micrococcus luteus*, *listeria monocytogenes*, *pseudomonas aeruginosa*) et une activité modérée avec les autres bactéries. De même, l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet possède une activité modérée avec toutes les bactéries. Cependant, les extraits méthanolique ont une forte activité antifongique.

Ces observations peuvent être attribuées à la nature de composantes biologiques actives contenus dans les extraits. En effet, divers composés chimiques ont une activité directe contre de nombreuses espèces de bactéries, tels que les terpènes et une variété composés

organiques aliphatiques (alcools, aldéhydes et cétones). Par conséquent, un rang de l'activité a été proposée comme suit: phénols> aldéhydes> cétones> alcools> esters> hydrocarbures [88]. Par exemple, certaines huiles essentielles contenant des structures phénoliques sont très actives contre un large spectre de micro-organismes [88,89].

Les aldéhydes sont connus pour avoir des activités antimicrobiennes puissantes [90]. Les alcools aliphatiques ont été signalés à posséder une activité forte à modérée contre plusieurs bactéries [90]. Les terpènes ont également montré des propriétés antimicrobiennes qui semblent avoir une activité antibactérienne forte ou modérée contre les bactéries Gram positives et contre les champignons pathogènes, mais, une faible activité a été observée contre les bactéries Gram négatif [91].

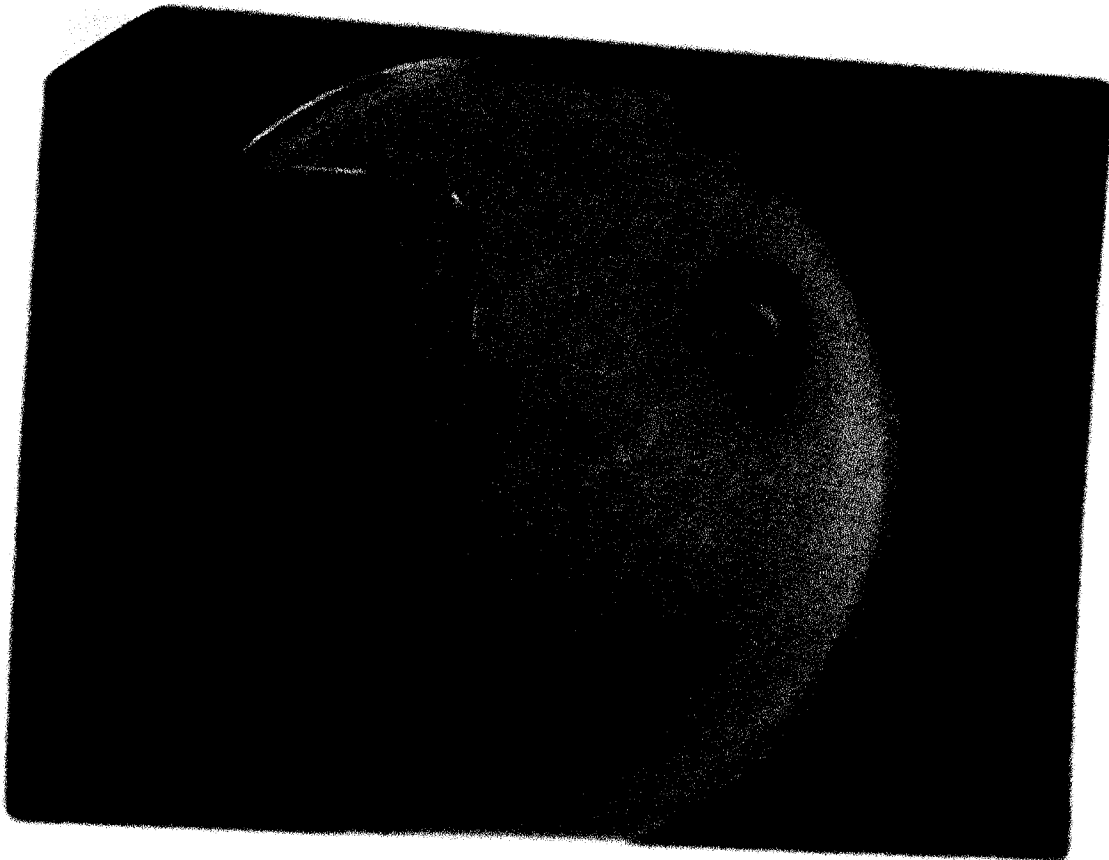


Figure 24: Les zones d'inhibitions des extraits en présence de la souche de *Bacillus cereus*

Conclusion générale

Le melon, fruit très consommé dans les pays méditerranéens, représente une plante très riche en vitamines, protéines, et minéraux, ce qui lui confère des atouts santé à ne pas négliger. Ce fruit avec toutes ces variétés ont été visées par plusieurs chercheurs afin de déterminer leur composition chimique et extraire les molécules responsables de l'activité biologique.

Cependant les pépins de ce fruit, résidus souvent négligés, n'ont pas été très étudiés et restent une source importante de produits bénéfiques pour l'organisme humain. Ce sont des graines oléagineuses riches en acides gras polyinsaturés et d'autres composés doués d'une activité antioxydante. Parmi, ces composés, les phénols qui constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal, et qui sont les premiers responsables de l'activité antioxydante dans les espèces végétales.

Le criblage phytochimique réalisé sur les pépins de melon basée sur des tests spécifiques a permis de montrer que les pépins sont riches en métabolite secondaire, notamment les polyphénols. Le dosage des polyphénols totaux, calculé en équivalent d'acide gallique a confirmé la présence des grandes quantités dans les extraits eau-éthanol (532,64 $\mu\text{g/g}$, 535,79 $\mu\text{g/g}$) et dans les extraits éthanoliques (346,82 $\mu\text{g/g}$, 565,02 $\mu\text{g/g}$).

L'activité antioxydante via la méthode DPPH des extraits augmente avec l'augmentation de leurs concentrations. Nous avons remarqué que l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique obtenu par soxhlet, représente l'activité antiradicalaire la plus élevée avec IC_{50} de 0,14 mg/ml, qui confirme la présence d'une teneur importante des antioxydants, dont les polyphénols sont parmi eux.

Les résultats du test de l'activité antibactérienne ont révélé que les extraits ont un pouvoir antibactérien. Néanmoins les extraits méthanoliques ont donné un grand pouvoir antibactérien et antifongique.

Notre travail a montré l'importance des pépins de melon sur le plan biologique et thérapeutique. Pour cette raison il faut envisager d'autres méthodes d'extraction pour aboutir à des extraits purement phénoliques, étudier et identifier les autres antioxydants existants dans les extraits des pépins de melon. Aussi faire d'autres analyses des extraits pour savoir la composition de ces derniers.

References

References bibliographies

- [1] K. Hostettmann; O. Potterat; J. L. Wolfender. "The potential of Higher Plants as a Source of New Drugs". *Chimia*. 52, 10-17, 1998.
- [2] M. Badiga. « Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *NeucleaLatifoliaSmith* une plante médicinale africaine récoltée au mali. *Thèse de doctorat à l'université Blaise Pascal de Clermont Ferrand*. 2012.
- [3] J. Bloch ; A. Botrel. « Encyclopédie des plantes médicinales », Edith Ybert, Tatiana Delesalle-Féat. 2001.
- [4] B. Halliwell. « Les anti-oxydants dans les fruits et légumes et leurs effets sur la santé ». *Aprifel*. 58, 2-39, 2003.
- [5] A. Scalbert. « Les polyphénols végétaux : des molécules aux atouts multiples ». *Aprifel*. 58, 2-6, 2003.
- [6] A.J.James. « Fruits, polyphénols et fonctions cognitives ». *Aprifel*. 58, 2-6, 2003.
- [7] F. Arbouche; H.S. Arbouche. "Evaluation of the crop waste products of melon "yellow canary" as animal feed: Influence of culture zones". *Livestock Research for Rural Development*. 19, 10, 2007.
- [8] N. Katzir; R. Harel-Bega; V. Protnoy; G. Tzuri; E. Koren; S. Lev; E. Bar; Y. Tadmor; Y. Burger; E. Lewinsohn; Z. Fei; J. J. Giovannoni; A. A. Schaffer ; M .Pitrat. "Melon fruit quality: a genomic approach". *Pitrat M. Proceedings*. 231-240, 2008.
- [9] F. Dupuis .Parc de Khal-agadi,. « pas si désert ». *Science & Vie n° 1130*, 18-21, 2011.
- [10] G. E. Lester; K. M. Crosby. "Human wellness compounds in Honeydew fruit : influence of cultivar and environment". *ISHS Acta. Horticulturae* 639, 2004
- [11] Y. Nakamura ; S. Watanabe. " Antimutagenic. Differentiation-inducing and antioxidative effects of fragrant ingredients in Katsura-uri (Japanese pickling melon; *Cucumis melo* var. conomon)". *Mutat Res*. 21,163-8, 2010.
- [12] I. Soerjomataram; D. Oomen. "Increased consumption of fruit and vegetables and future cancer incidence in selected European countries". *Eur J Cancer*. 46, 2563-80, 2010.
- [13] B. Gwynne. "The Return of the Montreal Melon». *Seeds of Diversity*, 13, 3, 2000.
- [14] H. Arzeena. Keeping. "Ahead of Powdery Mildew". *Gardenguides*. 2010.
- [15] J. Emmanuelle. « Des fruits et légumes contre les maladies cardio-vasculaires ». *Congrès EGEA, Paris*, 2008.
- [16] N. Tonelli ; F. Gallouin. « Des fruits et des graines comestibles du monde entier ». *Brigitte Peyrot, cucumis Melo.*, 429, 2013.

- [17] R. Armougom. « Etude de la fraction lipidique des graines des cucurbitacées tropicales des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica* ». Thèse de Doctorat. Université de la Réunion 1998.
- [18] G. L. Bowman. "Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging *Neurology WNL*". *published* .2011
- [19] S. D. Lal; K. Lata. "Plants used by Bhat community for regulating fertility". *Econ. Bot.*, 34, 273-275, 1980.
- [20] W. S. Woo; E. B. Lee; K. H. Shin; S. S. Kang; H. S. Chi." A review of research on plants for fertility regulation in Korea". *Korean J. Pharmacog.* 12, 153-170, 1981.
- [21] W. Bouazzaoui. "Etude exploratoire des acides gras des pépins de melon". *Mémoire de Master université de Tlemcen.* 2012.
- [22] S. Y. Wang; W. Zheng; J. Agric. "Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs". *Food Chem.* 49, 5165–5170, 2001.
- [23] V. Lepe; B. Moncada; J. P. Castanedo-Cazares; M. B. Torres-Alvarez; C. A. Ortiz; A. B. Torres-Rubalcava. "A doubleblind randomized trial of 0.1% tacrolimus vs 0.05% clobetasol for the treatment of childhood vitiligo". *Arch Dermatol.* 139, 581-5, 2003.
- [24] G. E. Lester; J. Agric. "Antioxidant, sugar, mineral, and phytonutrient concentrations across edible fruit tissues of orange-fleshed honeydew melon (*Cucumis melo* L.)". *Food Chem.* 56, 3694–3698, 2008.
- [25] M. Milovanović¹; P. Jovanović¹. "Characteristics and composition of melon seed oil". 50, 41-47, 2005.
- [26] J. Kajima Mulengi ; B. Tabti ; A. Mansri ; H. Allalil ; O. Bensaïd. « Chimie organique expérimentale, méthode de séparation ». *Office des publications universitaire.* 71, 1993.
- [27] F. Noudjou; H. Kouninki; T. Hance; E. Haubruge; L. S. T. Ngamo; P. M. Maponmestsem; M. Ngassoum; F. Malaisse; M. Marlier; G. Lognay. "Composition of *Xylopias aethiopica* (Dunal) A. Rich essential oils from Cameroon and identification of a minor diterpene: ent-13-epi manoyl oxide". *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 11, 193–199, 2007.
- [28] M. E. Lucchesi. « Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles ». *Thèse de Doctorat en Chimie de la faculté des Sciences et Technologies. Réunion.* 2005.
- [29] S. Achour Aouel. « Criblage phytochimique, Activité antioxydante et antibactérienne de la *Cynoglossum Cheirifolium* (ou ednineeeljadienne) ». *Mémoire de Master.* 2014.

- [30] J. K. Chalchat; L. P. Carry; C. Menut; G. Lamaty; R. Malhuret; J. Chopineau. « Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils ». *Journal of Essential Oil Research*. 9, 67-75, 1997.
- [31] L. R. Hernandez Ochoa. « Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale ». *Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse*. 2005.
- [32] Ph. Bego. « Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles ». *Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris*. 2-3, 2001.
- [33] B. Benjilali. « Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements ». *Manuel pratique : Huiles essentielles de la plante à la commercialisation*. 17-59, 2004.
- [34] M. M. Kingston; S. J. Haswell. "Microwave – Enhanced Chemistry, Fundamentals, Sample Preparation, and applications". *Edition American Chemistry Society, Washignton*. 772, 1997,
- [35] E. Székely; J. Lovász. " Application of mixtures of tartaric acid derivatives in resolution via supercritical fluid extraction". *Chirality*. 19, 430-433, 2007.
- [36] A. Loupy. "Microwaves in Organic Synthesis". 2^{ième} édition, Tome I & II". *Wiley- VCH, Weinheim*. 2006.
- [37] K. T. J. Loones; B.U. W. Maes; G. Rombouts; S. Hostyn.;G. Diels. "Microwaveassisted organic synthesis: scale-up of palladium-catalyzed aminations using single-mode and multimode microwave equipment". *Tetrahedron*, 61, 2005.
- [38] J. Clark, D. Macquarrie. "Hand book of Green Chemistry and Technology, chapter 17". *Blackwell Science Ltd, London*. 2002.
- [39] X. Zhang; D. Hayward. "Applications of microwave dielectric heating in environmentrelated heterogeneous gas-phase catalytic systems". *Inorganica Chimica Acta*. 359, 3421–3433, 2006.
- [40] M. H. Lau; J. Tang. « Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves ». *Journal of Food Engineering*. 51, 283–290, 2002.
- [41] E. Chiavaro; M. T. Rodriguez-Estrada; E. Vittadini; N. Pellegrini. « Microwave heating of different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters ». *LWT – Food Science and Technology*. 43, 1104-1112, 2010.
- [42] B. Abbasi Souraki; D. Mowla. "Experimental and theoretical investigation of drying behavior of garlic in an inert medium fluidized bed assisted by microwave". *Journal of Food Engineering*. 88, 438–449, 2008.

- [43] M. Franke; C. L. Winek; H. M. Kingston. "Extraction of selected drugs from serum using microwave irradiation". *Forensic Science International*. 81, 51-59, 1996.
- [44] K. Ganzler; A. Salgo; K. J. Valko. "Microwave extraction: a novel sample preparation method for chromatography". *Journal of Chromatography*. 371, 229-306, 1986.
- [45] P. Mengal ; B. Mompon. « Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes ». *Brevet Européen*. 1996.
- [46] F. Chemat ; M. Vian; F. Visoni. « Microwave hydrodiffusion for isolation of natural products ». *Brevet Européen*. 2008.
- [47] E. Vagi; B. Simandi; A. Suhajda; E. Hethelyi. " Food research international Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum marjorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide". *Chimia*. 38, 51-57, 2005.
- [48] R. Zarnowski; Y. Suzuki. "Expedient Soxhlet extraction of resorcinolic lipids from wheat grains". *Journal of Food Composition and analysis*. 649-663, 2004.
- [49] J. L. Luque-Garcia; M. D. Luque de Castro. « Applications Focused microwave-assisted Soxhlet extraction». *Talanta*. 64, 571-577, 2004.
- [50] J. L. Luque-Garcia; M. D. Luque de Castro. « Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: anexpeditive approach for solid sample treatment. Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds» *Journal of Chromatography A*. 1034, 237-242, 2004.
- [51] N. Bousabia. « Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ». *Thèse de doctorat*. 2013.
- [52] G. Richter. « Metabolisme des végétaux physiologie et biochimie ». *Presses polytechniques et universitaires romandes, lausanne, stuttgart*. 1993.
- [53] W. S. Judd ; C. S. Campbell ; E. A. Kellogg ; P. Stevens. "Botanique Systématique: une perspective phylogénétique ». *Ed 1. Deboeck*. 84-336, 2002.
- [54] H. P. S. Makkar; P. Siddhuraju; K. BECKER . "Plant Secondary Metabolites, Methods in Molecular Biology 393". *Ed: Humana press*. 67-111, 2007.
- [55] S. J. Bloor. "Method Enzymol". *Elsevier*. 335, 3-14, 2001.
- [56] F. Daayf; V. Lattanzid. "Recent Advances in Poly phenol Research", Ed: *Wiley-Blackwell*. 1-24, 2008.
- [57] O. Dangles. « Les polyphénols en agroalimentaire ». *Lavoisier*. 2006, 29-50.
- [58] J.E. M. Walker; M. J. Saraste; N. J. Gay. "Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold". *Journal of embo*. 8 , 945-951, 1982.

- [59] C. H. Zoubeidi. « Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis* ». *Labiatae*, 7, 167-275 , 2004.
- [60] B. Jacques ; R. André. « Biochimie métabolique ». *Ed ellipses .Paris.*, 217-219-220-223-225, 2004.
- [61] M. Martinez-Cayuela. "Oxygen free radicals and human disease". *Biochem*. 77, 147-161, 1995.
- [62] B. Boyd; C. Ford; M. C. Koepke; K. Gary; E. Horn; S. Mc Analley; B. Mc Analley.

- [72] F. Edwin; N. Meyer, S. Anne. "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants". *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80, 1925-1941, **2000**.
- [73] D. Huang; O. Boxin Prior, L. Ronald. "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 1841-1856, **2005**.
- [74] F. Baluska." Structure and Function of Roots. Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones". *Elsevier Science* . 53, **1995**.
- [75] P.Valenwuela. « Antwerpen Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système Myloperoxydase/ Peroxyde d'hydrogène/Chlorure ». *Thèse de doctorat. Université libre de Bruxelles*. 3-5, **2006**.
- [76] J. P. Curtay ; J. M. Robin. « Intérêt des complexes antioxydants ». *Nutithérapie INFO.*, 6, **2000**.
- [77] W. Lisu; Y. Jui Hung; L. Hsiao Ling ;M. J. Wul. "Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (NelumbonuciferaGertn)". *Journal of food and Drug Analysis*. 11, 60-66, **2003**.
- [78] N. Pellegrini ; M. Serafini ; B. Colombi. « Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays». *J Nutr*. 133, 2812-2819, **2003**.
- [79] S. Phipps; M. Sharaf; V. Butterweck. "Assessing antioxidant activity in botanicals and other dietary supplements". *Pharmacopeial Forum*. 33, 810-814, **2007**.
- [80] A. Bougatef; M. Hajji; I. Lassoued; Y. Triki Ellouz; M. Nasri. "Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (Mustelusmustelus) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases". *Food Chem*. 114, 1198-1205, **2009**.
- [81] L. Unten; M. Koketsu; M. Kim. "Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on β -carotene. *J. Agr. Food. Chem*. 45, 2009-2019, **1997**.
- [82] M.Keddar. « composition chimique, activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de quelques Daucus ». *Mémoire de Master université de Tlemcen*. **2012**.
- [83] J.Harborn. « Phytochemical methods ». *A guide to modern technique of plant analysis*, , London. **1998**.
- [84] C.Bonnaillie; M.Salacs; E.Vassiliova. « Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide ». *Génie industriel* 7, 35-45, **2012**.

- [85] A. Bidie ; B. N'guessan; A. Yapo. « Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne ». *Science et nature*. 8, 1-11, 2011.
- [86] C.Popovici ; I.Saykova ; B.Tylkowski. « Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH ». *Génie industriel*.4, 25-39, 2009.
- [87] F.Mokri. "Activités antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielles de *Daucus gracilis* endémique. *Mémoire de master université de Tlemcen*. 2012.
- [88] D.Kalembe ; A.Kunicka. « Antibacterial and antifungal properties of essential oils." *Current medicinal chemistry*. 10, 813-829, 2003.
- 89] M.Güllüce; M.Sökmen; D .Daferera; G .Agar. "In-vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L". *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 3958-3965, 2003.
- [90] N.Kabelitz; M.Santos; H.Heipieper. "Effect of aliphatic alcohols on growth and degree of saturation of membrane lipids in *Acinetobacter calcoaceticus*". *FEMS Microbiology Letters*, 220: 223-227, 2003.
- [91] Hada T, Shiraishi A, Furuse S, Inoue Y, Hamashima H, Masuda K, Shiojima K, Shimada. "Inhibitory effects of terpene on the growth of *Staphylococcus aureus*". *Natur Medicin*, 57: 464-467, 2003.

