



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

والكون كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Thème

**Dosage des composés phénoliques et
évaluation des propriétés biologiques des
graines de la figue de barbarie**

Présenté par :

Bendjeddou Yasmine

Chetioui Dalila

Devant le jury :

Présidente: Mme BOUSSAHA S MAA (Univ: Mohamed El Bachir El Ibrahimi)

Encadrant: M^r TOUATI N MCA (Univ: Mohamed El Bachir El Ibrahimi)

Examineur: M^r GUISSOUS M MCB (Univ: Mohamed El Bachir El Ibrahimi)

Année universitaire : 2021/2022



Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur **M^r TOUATI Noureddine** qui nous a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés à la présidente de jury **Mme BOUSSAHA Soumaya**.*

*Nos vifs remerciement vont également à **M^r GUISSOUS Mokhtar** pour l'intérêt qu'il a porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.*

*Un remerciement spécial et sincère à Madame **SAKHERAOUI Amira** de nous avoir aidées à réaliser ce travail.*

Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute l'équipe du laboratoire (les responsables et les techniciens) de l'université Mohammed El Bachir El Ibrahimi.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers(SNV) et à toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

.....Merci à tous....



*figue
de barbarie*

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

L'aide de dieu "Allah" tout puissant Qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail.

Ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde. Mes chers parents qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés son appui durant toutes mes années d'études, pour ses sacrifices et soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

*Ma très belle chère mère **Zina**.*

*Mon très cher père **Hocine**.*

*Ma très belle chère sœur unique; **Salima**.*

*Mes très chers frères ; **Samir, Hamza, Youcef, Khaled**.*

La mémoire de mes chers grands parents de ma mère.

Mes chers grands parents de mon père.

*Tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom **CHETIOUI**.*

*Ma très chère binôme **Yasmine** qu'est partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.*

Toutes mes chères amies, et mes proches sans exceptions qu'ils soient proche ou loin.

Mes camarades et mes chers professeurs et enseignants de la promotion «qualité du produit et sécurité alimentaire 2022».

Je remercie toute les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de pré ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.



DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

*L'homme de ma vie, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, ce lui qui s'est toujours sacrifié pour ma voir réussir, que quand je pense à lui, tous les mots deviennent insuffisants pour décrire mon amour et ma gratitude, à toi papa **Ali**.*

*Le symbole de la bonté par excellence, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman **Salima**.*

Les personnes les plus chers dans le monde:

*Mes frères **Nabil, Azize, Raziq, Housni** et ma sœur **Chahra**.*

*Toi ma binôme **Dalila** qui ma toujours soutenu et à je souhaite le bonheur et la réussite du monde.*

*Mes très chers amies **Amal, Nawel, Chaima** qui ont partagés les moments les plus difficiles, en 3 ans ensemble dont je garde des bon souvenirs.*

*Tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.
Que dieu vous garde.*



Yasmine

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
I. Matériel et méthodes	3
I.1. Matériel	3
I.1.1. Matériel végétales	3
I.1.1.1. Récolte de la plante	3
I.1.1.2. Préparation des échantillons.....	3
I.1.2. Matériel de laboratoire	4
I.2. Méthodes	4
I.2.1. Dosages des substances bioactives.....	4
I.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux	4
I.2.1.2. Dosage des flavonoïdes	5
I.2.1.3. Dosage des tannins condensés : Proanthocyanidines.....	6
I.2. 2. Activités antioxydantes	6
I.2. 2.1. Le test de piégeage du radical DPPH.....	6
I.2. 2.2. Pouvoir réducteur «FRAP»	8
I.2. 2.3. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène.....	9
I.2. 2.4. Test de blanchissement du β -carotène.....	9
I.3. Analyse statistique	10
II. Résultats et discussion	11
II.1. Dosages des substances bioactives	11
II.1.1. Les composés phénoliques totaux.....	11
II.1.2. Les flavonoïdes	12
II.1.2. Les tannins condensés.....	12
II.2. Potentiel antioxydant	12
II.2.1. Le test de piégeage du radical DPPH.....	13
II.2.2. Pouvoir réducteur « FRAP ».....	14
II.2.3. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène	14
II.2.4. Test de blanchissement du β -carotène	15
II.3. Corrélations entre les substances bioactives et les activités antioxydantes	15
Conclusion	17
Références bibliographiques	19
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

CPT	Composé phénoliques totaux
DPPH	Radical 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
EAA	Equivalent Acide Ascorbique
EAG	Equivalent en Acide Gallique
EC	Equivalent en cyanidine
ECA	Equivalent en catéchine
EQ	Equivalent en quercétine
ERU	Equivalent en rutine
FeCl₃	Chlorure de fer
Fe²⁺	Ion ferreux
Fe³⁺	Ion ferrique
FRAP	Pouvoir antioxydant réducteur du fer
Fe₂(SO₄)₃	sulfate d'ammonium ferrique
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HCl	Acide chlorhydrique
H₃PMo₁₂O₄₀	Acide phosphomolybdique
H₃PW₁₂O₄₀	Acide phosphotungestique
KH₂PO₄	Phosphate de potassium monobasique
K₂HPO₄	Potassium Phosphate dibasique
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
MS	Matière sèche
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
TCA	Acide trichloracétique
W	Watt
OFI	<i>Opuntia ficus indica</i>

Liste des figures

Figure 01	Diagramme représentant le protocole d'extraction des composés phénolique	4
Figure 02	Réaction du test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)	7
Figure 03	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant(AH)	9

Liste des tableaux

Tableau I	Teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, tannins condensés des graines de figue de barbarie.	11
Tableau II	Les résultats des activités antioxydantes DPPH, FRAP, H ₂ O ₂ et blanchissement de β- carotène des graines de figue de barbarie.	13
Tableau III	Corrélations entre les substances bioactives et les activités antioxydantes.	15



Introduction



Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes des maladies (**Athamena, 2009**). En effet, la recherche médicale moderne redécouvre avec un intérêt grandissant la plante et ses propriétés. Elle étudie les molécules actives qui la composent et lui permettent de lutter efficacement contre quelques-unes des affections les plus graves (**Schweizer, 1997 ; Lee et al., 2002**).

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit des molécules de base (acide nucléique, lipides, protéines, acides aminées et glucide) ; en plus, les plantes produisent, un grand nombre de composés appelés métabolites secondaires. Ces dernières sont responsables des vertus thérapeutiques des plantes médicinales et aromatiques (**Mohammedi, 2013**).

Les antioxydants naturels ont fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques concernant leurs propriétés biologiques à l'égard du stress oxydatif responsable du vieillissement et du déclenchement ainsi que la progression de plusieurs pathologies (cancer, diabète, athérosclérose, accidents cardiovasculaires, ostéoporose, maladies inflammatoires, et les maladies neurodégénératives) (**DeMarchietal., 2013; Jones,2013**).

Le figuier de barbarie, connue sous le nom botanique *Opuntia ficus-indica*, est une plante originaire des régions arides et semi-arides du Mexique. Elle a été introduite en Afrique de Nord vers le 16ème siècle. Son fruit, la figue, est très rafraichissant et nutritif. Il est riche en vitamine C et contient de l'albumine, du sucre incristallisable et du mucilage (substance végétale de nature visqueuse, coagulable en gelée par l'alcool) (**Bouzoubaâ et al., 2014**).

Malgré son abondance particulièrement dans la région de la Kabylie, la figue de barbarie suscite peu d'intérêts; elle n'est pas valorisée et sa consommation reste saisonnière. Les graines le sont encore moins puisque jusqu'à présent elles sont considérées comme un déchet et donc jetées. Et pourtant leur importance ne cesse de prendre de l'ampleur dans d'autres pays comme le Mexique, l'Argentine, l'Espagne...et même dans les pays voisins (Maroc et Tunisie). La richesse de leur huile en matières insaponifiables et acides gras essentielles ont en fait un bon atout pour son exploitation en cosmétologie et sa

Introduction

consommation comme huile de table (**Habibi, 2004; Habibi et al., 2005**). Par ailleurs, les graines renferment divers composés phytochimiques tels que les métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes et tannins) qui pourrait justifier leur exploitation industrielle comme antioxydant naturel (**El Kossori et al., 1998 ; Cardador-Martinez et al., 2011**). En outre, les graines sont caractérisées par leur richesse en xylanes qui est doué d'applications très diverses, pouvant aller de l'industrie plastique, de la papeterie à des applications médicales. Les dérivés alkyles amphiphiles de xylanes possèdent des propriétés émulsifiantes excellentes, et sont largement utilisés dans le domaine agroalimentaire (**Habibi, 2004**).

Peu d'études ont été rapportées par la littérature sur cette composition phénolique ainsi que sur son activité antioxydante. En Algérie, très peu d'information existe sur, que ce soit, le fruit ou la graine. La présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des graines d'une variété locale de figue barbarie selon la méthodologie suivante:

- préparation des extraits acétoniques des graines de figue barbarie à en utilisant un micro-onde.
- Évaluation de la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.
- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits acétoniques des graines de figue barbarie par les tests de : DPPH, pouvoir réducteur, le test de piégeage de peroxyde d'hydrogène et blanchissement de β -carotène.

Pour cette raison, notre travail sera présenté comme suit:

- ❖ Une introduction générale.
- ❖ Deux volets: l'un présente l'extraction, le matériel et les méthodes avec leurs principes des dosages colorimétriques (des polyphénols totaux, des flavonoïdes et les tannins condensés) et des activités antioxydantes (DPPH, pouvoir réducteur, le test de piégeage de peroxyde d'hydrogène et blanchissement de β -carotène); l'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.
- ❖ Enfin, une conclusion et perspectives.



Matériel et Méthodes



I. Matériel et méthodes

Le travail expérimental de ce mémoire a été effectué et réalisé au niveau de laboratoire pédagogique (T₃) à la faculté des sciences de la nature, de la vie et des sciences de la terre et de l'univers (FSNV-STU), de l'université de Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arreridj - Algérie, durant la période comprise entre Mars et Mai de l'année 2022. L'objectif de l'étude est consisté à évaluer la caractérisation quantitative des dosages spectrophotométrique tels que : les polyphénols et les flavonoïdes, les tannins condensés ainsi que l'activité antioxydante tels que : test de piégeage du radical DPPH, Dosage du pouvoir réducteur « FRAP », test de piégeage du peroxyde d'hydrogène et blanchissement de β -carotène de l'extrait des graines de figue de barbarie.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétales

I.1.1.1. Récolte de la plante

La plante *Opuntia ficus indica* utilisées dans cette étude a été récoltée à EL Hamra, wilaya de Bordj Bou Arreridj (Algérie) vers la fin de mois d'août 2020.

I.1.1.2. Préparation des échantillons

Ces fruits ont été débarrassés de leurs épines, lavés, pelés puis malaxés avec un mélangeur électrique (SEB 500 Watt), les graines ont été ensuite séparées de la pulpe puis rincées. Une fois séchées, les graines ont été broyées puis tamisées (200 μ m). La poudre obtenue a été conservée dans des bocaux à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation.

➤ Préparation des extraits

La méthode utilisée à été une extraction solide- liquide, avec un micro-onde. Une quantité de 0,5 g de poudre des graines de figue barbarie a été placée dans une fiole de fond de 250ml contenant 20ml d'acétone de concentration 60% avec l'eau distillée, la suspension a été extraite à puissance de 700 W, pendant 170 secondes dans le micro-onde. Les extraits ont été séparés par centrifugation à 3000 T/min, à température 10 °C pendant 15 minutes et stockés à 4 °C jusqu'à l'utilisation (**Figure 01**).

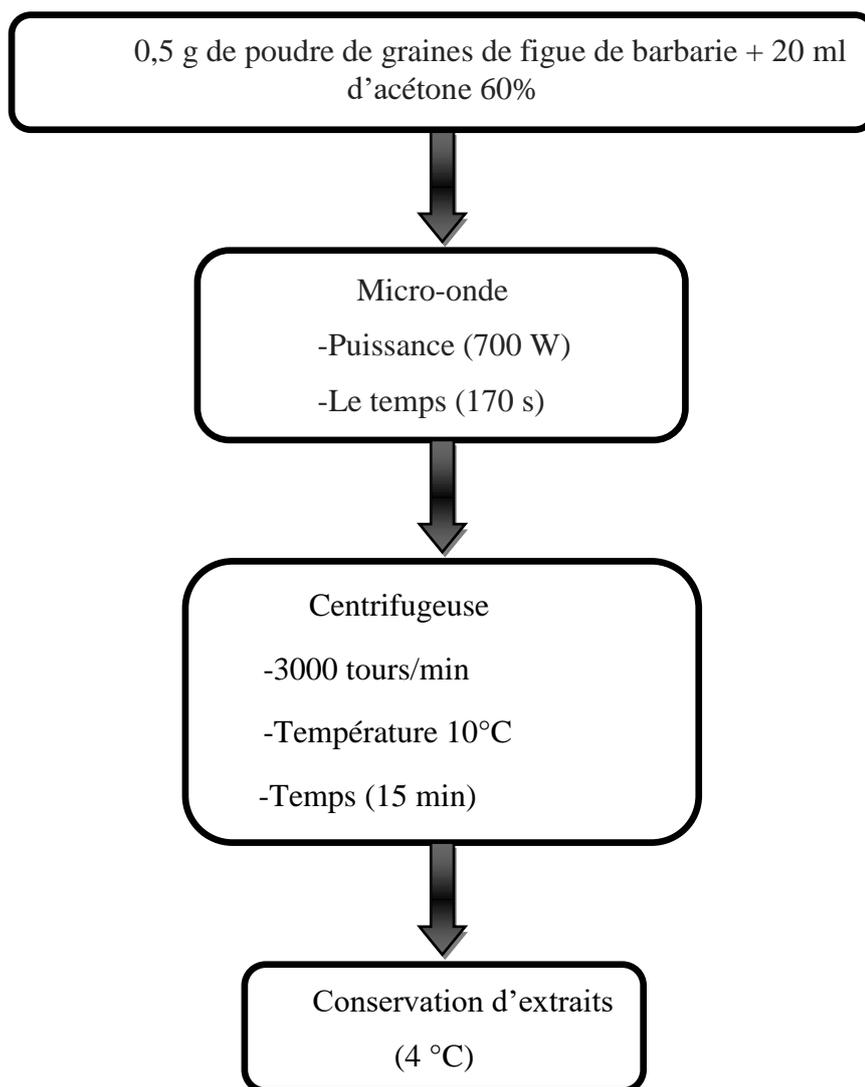


Figure 01: Diagramme représentant le protocole d'extraction des composés phénoliques

I.1.2. Matériel de laboratoire

Les réactifs et les appareils utilisés dans cette étude sont mentionnés dans (Annexe01).

I.2. Méthodes

I.2.1. Dosages des substances bioactives

I.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux

a. Méthode de dosage

La détermination de la teneur en composés phénoliques a été estimée selon la méthode de (Ghasemzadeh *et al.*,2010); en effet, dans des tubes à hémolyse, 200 μ l

Matériel et méthodes

d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec dilution 1/4) est ajouté à 750 µl de réactif de Folin-Ciocalteu 10%, et 400 µl de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5%) ont été additionnés. L'absorbance a été mesurée à 720 nm après 15 min d'incubation à l'obscurité, contre un blanc. Le test est réalisé en trois fois.

La teneur en composés phénoliques est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (**Annexe02, figure1**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de matière sèche (mg EAG/100g MS).

b. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Ribéreau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot & Charpentier, 2006**).

I.2.1.2. Dosage des flavonoïdes

a. Méthode de dosage

La détermination de la teneur en flavonoïde d'extrait a été effectuée en suivant la méthode de Trichlorure d'aluminium AlCl_3 (**Djeridane et al., 2006**). En effet, dans des tubes à hémolyse, 1ml de chlorure d'aluminium AlCl_3 (à 2% dans le méthanol pur) est ajouté à 1 ml de l'extrait. Le mélange a été vigoureusement agité, est incubé pendant 10 minutes et l'absorbance est ensuite lue à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes dans les extraits a été calculée en mg équivalent de quercétine/100g de matière sèche (mg EQ/100g MS) par référence à une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (**Annexe03, figure2**).

b. Principe

Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde égale à 430 nm (**Chia-chi et al., 2002**).

I.2.1.3. Dosage des tannins condensés : Proanthocyanidines

a. Méthode de dosage

Cette méthode de détermination du taux des proanthocyanidines a été proposée par (Porter *et al.*,1986). La méthode est basée sur le mélange butanol / HCl. 400 µl d'extrait ont été mélangés avec 2 ml d'une solution d'acide de sulfate ferreux (7,7 mg de sulfate d'ammonium ferrique: Fe₂(SO₄)₃ dissous dans 50 ml de (n-butanol; Hcl (3v ; 2v)). Après incubation à 95 °C pendant 15 minutes, l'absorbance a été mesurée à 530 nm. Le test est réalisé en trois fois.

Le calcul de la concentration en proanthocyanidines permet d'obtenir des résultats qui sont exprimés selon l'équation suivante:

$$CT=A \times PM \times 1000 / \epsilon \times L$$

Où :

CT: la concentration de tanins en mg/l.

A: absorbance enregistrée à 530nm.

PM: la masse molaire de cyanidine (449,2 g/mol).

ε: le coefficient d'extinction moléculaire (26900l/mol/cm).

L: Longueur de la cellule mesuré en cm(1).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de cyanidine -3-glucoside / 100g de matière sèche (mg EC/100g MS).

b. Principe

Les tannins condensés ont été dosés suivant la méthode du Butanol-Hcl, développée par (Iqbal *et al.*,2011); elle est basée sur la réaction de dépolymérisation des tanins condensés en milieu acide. Cette réaction conduit à la libération des anthocyanidines (molécules colorées) correspondants aux monomères clivés.

I.2. 2. Activités antioxydantes

I.2. 2.1. Le test de piégeage du radical DPPH

a. Méthode de dosage

L'activité anti radicalaire a été évaluée selon la méthode décrite par (BrandWilliams *et al.*,1995). Un volume de 200 µl d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec dilution 1/8) est ajouté à 1 ml de solution méthanolique de DPPH, le mélange a été vigoureusement

Matériel et méthodes

agité. L'absorbance est mesurée à 515 nm après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité. Tous les essais ont été effectués en triple exemplaires.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique /100g de matière sèche (mg EA/100g MS) en se référant à une courbe d'étalonnage (**Annexe04, figure3**).

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire est calculé selon l'équation suivante:

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Où

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.

b. Principe

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante.

En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH[•] donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH[•] par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (**Molyneux, 2004**). Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (**Popovici et al., 2010 ; Molyneux, 2004**); (**Figure 02**).

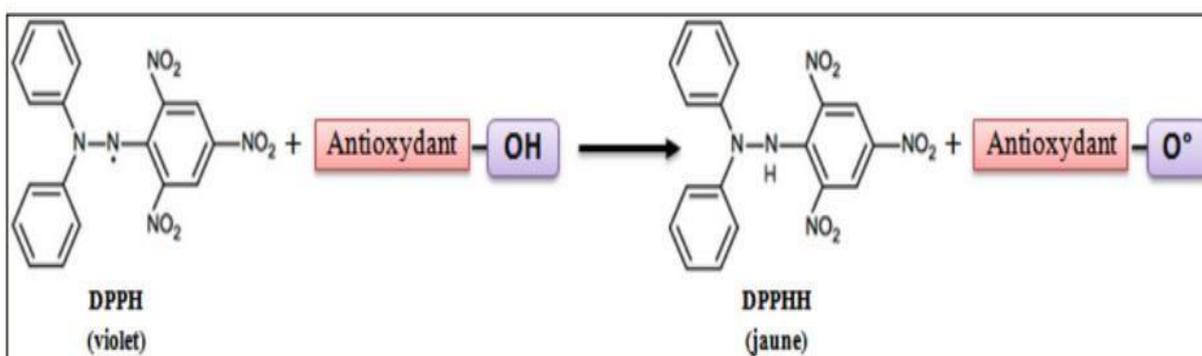


Figure 02:Réaction du test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)
(Liang et Kitts, 2014).

I.2. 2.2. Pouvoir réducteur « FRAP »

a. Méthode de dosage

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par (Oyaizu, 1986). Dans des tubes à essai en verre contenant 250 µl d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec dilution 1/3), ont été ajoutés 250 µl de tampon phosphate (0,2M; pH 6,6) puis 250 µl de ferricyanure potassium ($K_3Fe(CN)_6$ à 1%) dans l'eau distillée. L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes. En suite 250 µl d'acide trichloracétique (TCA à 10%) ont été ajoutés au mélange avec 1 ml d'eau distillée et 200 µl de chlorure ferrique ($FeCl_3$ à 1%) fraîchement préparé dans de l'eau distillée. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par l'acétone 60%. L'absorbance est mesurée à 700 nm. Tous les essais ont été effectués en triple exemplaires. Les résultats du pouvoir réducteur sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 100g de matière sèche (mg EAA/100g MS), en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe05, figure4).

b. Principe

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (Ou *et al.*, 2001). La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002). En effet, le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Amarowicz *et al.*, 2004); (Figure 03).

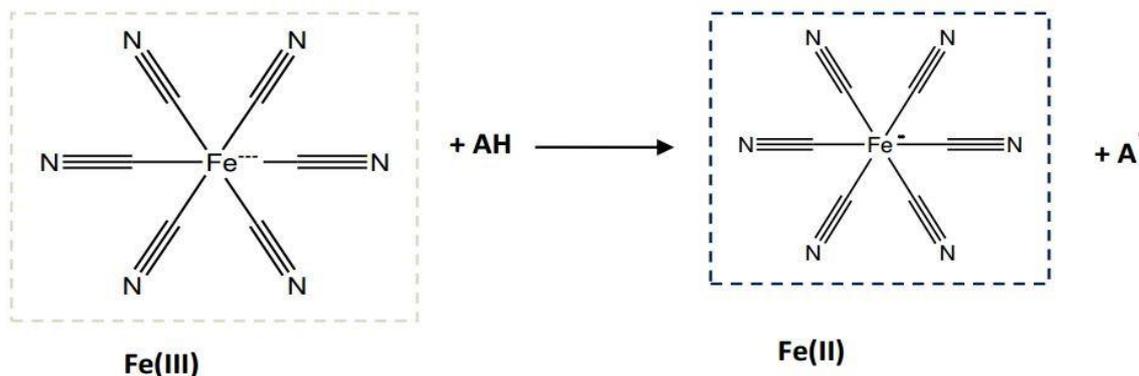


Figure 03: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH)

I.2. 2.3. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène

a. Méthode de dosage

L'activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène a été déterminée par la méthode du (Ruch *et al.*,1989). En effet, dans des tubes à hémolyse, 50 µl d'extrait est ajouté à 1 ml de H₂O₂ (40mM) dans du tampon phosphate et 1450 µl de solution tampon phosphate (0,1 M; pH 7,4). Le mélange est incubé pendant 10 minutes, et l'absorbance est ensuite lue à 230 nm. Le contrôle positif a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'acétone 60%. Tous les essais ont été effectués en triple exemplaires.

L'activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène a été calculée selon la formule suivante:

$$\text{Activité (\%)} = [(\text{Ac}-\text{At}) / \text{Ac}] \times 100$$

Où :

Ac: Absorbance de contrôle.

At : Absorbance de l'échantillon (test).

b. Principe

La capacité de l'extrait des graines de figue de barbarie à piéger le peroxyde d'hydrogène est mesurée (Atmani *et al.*,2009).

I.2. 2.4. Test de blanchissement du β-carotène

a. Méthode de dosage

La méthode décrite par (Tepe *et al.*, 2005 ;Kartal *et al.*, 2007), a été employée. Une émulsion β-carotène/acide linoléique a été préparée par solubilisation de 2 mg de β-carotène dans 1 ml de chloroforme, ensuite 25 µl de l'acide linoléique et 200 mg de tween40 sont additionnés. Le chloroforme est complètement évaporé au rotavapeur et

Matériel et méthodes

100ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés, l'émulsion résultante est vigoureusement agitée. À 2,5 ml du mélange précédent (émulsion β -carotène/acide linoléique), 350 μ l d'extrait a été ajouté, trois répétitions ont été effectuées. Les tubes à essai ont été incubés en obscurité à la température du laboratoire. Deux tubes contrôle ont été aussi préparés avec la même procédure, l'un contenant un antioxydant de référence BHT (contrôle positif) solubilisé dans du méthanol (2 mg/ml) et l'autre sans antioxydant (contrôle négatif) où l'échantillon est remplacé par 350 μ l d'acétone 60%. La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 48 heures. Tous les essais ont été effectués en triple exemplaires.

L'activité antioxydante relative des extraits (AAR) est calculée selon l'équation suivante:

$$\text{AAR}\% = [\text{Abs48h (échantillon)}/\text{Abs48h (BHT)}] \times 100$$

Où :

AAR : Activité antioxydante relative.

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon après 48 heures.

Abs BHT : Absorbance du BHT après 48 heures.

b. Principe

Le test de blanchissement de β -carotène permet d'évaluer l'aptitude d'un échantillon donné d'inhiber la peroxydation lipidique *in vitro* (Tepe et al.,2005), où l'oxydation d'acide linoléique génère des radicaux libres qui vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé, ce qui conduit à la disparition de sa couleur orangée. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement de β -carotène (Kulisic et al.,2004; Sarikurkcu et al.,2008).

I.3. Analyse statistique

Chaque résultat est la moyenne de 3 essais (moyenne \pm écart-type). Les corrélations ont été réalisées avec le logiciel inffostat.



Résultats et Discussion



II. Résultats et discussion

II.1. Dosages des substances bioactives

Il existe différents antioxydants dans les graines de figue de barbarie tels que les flavonoïdes et les tanins qui représentent plus de la moitié des composés phénoliques (Cardador-Martínez *et al.*, 2011). Cependant, l'intérêt s'est plus focalisé sur leur teneur en huile, et peu de travaux ont été réalisés sur leurs composition et activité antioxydante ce qui rend la comparaison difficile.

Les résultats des dosages de l'ensemble des antioxydants (composés phénoliques totaux, flavonoïdes et tannins) dans les extraits de graines de figues de barbarie, déterminé spectrophotométriquement selon plusieurs procédés, sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau I: Teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, tannins condensés des graines de figue de barbarie

Antioxydants	Teneurs
Composés phénoliques totaux (mg EAG/100g)	905,71±42,50
Flavonoïdes (mg EQ/100g)	50,77±0,08
Tanins condensés (mg EC/100g)	98,99±8,19

II.1.1. Les composés phénoliques totaux

Le résultat de teneur de l'extrait acétonique de graines de figue de barbarie en CPT est présenté dans (Tableau I). La concentration est de 905,71±42,50 mg EAG/100g MS. Ce résultat est largement supérieur à celui rapporté par (Cardador-Martínez *et al.*, 2011), pour la même espèce dans les cultivars d'origine mexicaine qui sont comprises entre 337 à 460 mg EAG/100g MS. Cette différence peut être attribuée soit aux méthodes d'extraction ou d'analyse, nature de solvant, l'origine géographique de l'échantillon, degré de maturation ou aux stockages. La solubilité des composés phénoliques est gouvernée par le type du solvant utilisé (polarité), le degré de polymérisation des polyphénols, ainsi que les interactions des composés phénoliques avec d'autres composés de la plante et la formation des complexes insolubles cependant il n'y a pas une procédure d'extraction uniforme ou complémentaire satisfaisante qui extrait tous les composés phénoliques ou une classe spécifique des substances phénoliques dans le matériel végétal (Falleh *et al.*, 2008). La même observation a été notée avec les teneurs des graines d'autres espèces telles que: la tomate (16,66-31mg EAG/100g MS) (Toor *et al.*, 2005).

II.1.2. Les flavonoïdes

Le résultats de dosage obtenues pour les graines d'*Opuntia Ficus Indica* dans (**tableau I**), montre que la teneur des flavonoïdes est de $50,77 \pm 0,08$ mg EQ/100g, ce résultat est supérieur aux les résultats mentionnées par (**Cardador-Martinez et al.,2011**) est qui sont comprises entre 46 et 50 mg ECa/100g Ms.

Comparées aux graines d'autre espèces, cette teneur obtenue dans les graines de figue de barbarie est inférieure à celles des noyaux de la datte (41,4 mg EQ/g MS); (soit 4140 mg EQ/100g MS) (**Dehghanian et al., 2017**). Par contre, la teneur en flavonoïdes obtenue dans les graines de figue de barbarie est supérieur à celles dans les graines de tomate (10,33-14,65 mg ERU/100g) (**Toor et savage,2005**). Il est à noter que, la teneur en flavonoïdes est souvent exprimée par différents standards équivalents (quercétine, rutine, catéchine) et la nature des standards utilisés pourrait donc, en plus des facteurs cités plus haut, influence le résultat final.

II.1.2. Les tannins condensés

La teneur en tanins des graines de figue de barbarie (**Tableau I**) présente une concentration de $98,99 \pm 8,19$ mg/100g. Ce résultat est inférieur à ceux enregistrées par (**Cadador-Martinez et al.,2011**) et dont l'intervalle est compris entre 137 et 205 mg ECa/100g MS. La même observation a été notée avec les teneurs des pépins d'autres espèces telles que l'orange (2,7 mg EC/g MS); (soit 270 mg EC/100g MS) (**Moulehi et al.,2012**).

II.2. Potentiel antioxydant

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action: éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés. Les polyphénols, présents dans les aliments ou formés au cours des procédés de transformation sont considérés comme éliminateurs des radicaux libres (**Chew et al.,2009**).

La mesure du potentiel antioxydant est réalisée en déterminant les produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels. Les quatre types de tests que nous avons utilisés pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits de graines de figue de barbarie sont: l'activité antiradicalaire DPPH, FRAP, H_2O_2 , blanchissement du β -carotène et sont résumés dans le (**Tableau II**):

Tableau II: Les résultats des activités antioxydantes DPPH, FRAP, H₂O₂ et blanchissement du β -carotène des graines de figue de barbarie

Activités antioxydantes	Valeurs
DPPH (mg EAG/100g)	248,40±15,06
PR (mg EAG/100g)	382,56±7,70
H ₂ O ₂ (%)	62,01±2,57
blanchissement du β -carotène(%)	83,87±1,76

II.2.1. Le test de piégeage du radical DPPH

Ce test n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le radical DPPH et ainsi apprécier les variations qualitatives des composés phénoliques.

La méthode de DPPH est basée sur la capacité des composés à agir en tant que piégeurs de radicaux en donnant un atome d'hydrogène (Leong et al., 2009). Le résultat de l'évaluation de l'activité antiradicalaire d'extraits des graines de figue de barbarie est présenté dans (Tableau II), il montre que la concentration d'inhibition du radical DPPH est de 248,40±15,06 mg EAG/100g MS. Ce résultat est supérieur à celui rapporté par (Chaalal et al., 2013) pour la même espèce dans les cultivars d'origine algérienne (Bousselame, Sétif, Algérie) de 3 variétés différentes:

- Variété jaune (891,38 ± 6,75 μ g EAA/g); (soit 89,138 mg EAA/100g).
- Variété rouge (1123,82 ± 17,15 μ g EAA/g); (soit 112,382 mg EAA/100g).
- Variété rouge-jaune (1146,99 ± 6,78 μ g EAA/g); (soit 114,699 mg EAA/ 100g).

Les molécules antioxydants telles que l'acide gallique, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène. Les polyphénols contenus dans les extraits d'*Opuntia ficus indica* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. Cela est en accord avec les travaux menés sur les extraits des graines d'*Opuntia ficus indica*, espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydant et antimicrobienne (Toor et Savage, 2005). Des études montrent que l'activité antiradicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (Mariod et al., 2009). Ceci mène à suggérer que l'effet antioxydant de différents extraits de notre plante peut être dû à un synergisme entre les polyphénols et d'autres composants.

II.2.2. Pouvoir réducteur « FRAP »

La capacité de donation d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydante d'un composé. Cette capacité de donation d'électrons est appelée pouvoir réducteur.

La réduction provoque le changement de couleur, il y a virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium au bleu vert dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'extrait (**Ozsoy et al., 2008**).

Le résultat de l'évaluation de pouvoir réducteur d'extraits des graines de figue de barbarie étudié, est présenté dans (**Tableau II**), qui montre que la concentration de pouvoir réducteur est de $382,56 \pm 7,70$ mg EAG/100g MS. Ce résultat est supérieur à celui obtenu sur les graines de la figue de barbarie moulues (variété jaune, rouge et rouge-jaune) par (**Chaalal et al., 2013**) qui donnent des valeurs de $1861,55 \pm 17,60$ µg EAA/g, $1894,27 \pm 16,59$ µg EAA/g et $1978,16 \pm 13,18$ µg EAA/g; (soit 186,155 mg EAA/100g, 189,427 mg EAA/100 et 197,816 mg EAA/100g) respectivement, et dans l'intervalle aux résultats donnés par (**Chougui et al., 2013**) sur les graines de figue de barbarie (32,3 mg EAA /100g et 51,3 mg EAA /100g).

Le pouvoir réducteur d'extraits de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Bougandoura&Bendimerad, 2012**).

De nombreux auteurs et quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur (la capacité réductrice) d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Gulçin et al., 2005 ; Huang et al., 2005 ; Hinneburg et al., 2006 ;Bougandoura&Bendimerad, 2012**).

II.2.3. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène

Les résultats de l'activité antioxydante figurent dans (**Tableau II**) expriment les capacités de détoxification in vitro du peroxyde d'hydrogène par les extraits de graines de figue de barbarie. Le résultat révèle une activité moyenne car les extraits testés ont la capacité de neutraliser le peroxyde d'hydrogène de $62,01 \pm 2,57\%$, ce résultat est inférieur à celui enregistré par (**Chaalal et al., 2013**) qui indiquait que les graines broyées de figue de

Résultats et discussion

barbarie ont exercé le meilleur effet de piégeage de H₂O₂ qui atteint 93,55 ±1,32% pour les variétés rouge, suivies par des variétés rouge-jaune 93,16±1.93% et jaune 91.87±1.25%.

II.2.4. Test de blanchissement du β-carotène

Le résultat de ce test (**Tableau II**), montre que l'activité antioxydante relative est de 83,87±1,76%. A la lumière de la recherche bibliographique effectuée, il n'y a pas des travaux réalisés sur cette activité de l'espèce *Opuntia ficus indica*. Pour cette raison, le résultat obtenu dans cette étude a montré que l'extrait a un pourcentage d'inhibition important. Cela serait dû à la polarité et la composition chimique de l'extrait.

Un extrait qui inhibe le blanchissement du β-carotène peut être décrit comme un piègeur des radicaux libres et comme un antioxydant primaire (**Liyana-Pathirana et al., 2006**). Selon plusieurs auteurs, le test d'inhibition de l'acide linoléique couplé à celui du β-carotène, paraît utilisé comme un modèle mimétique de la peroxydation lipidique dans les membranes biologiques (**Ferrera et al., 2006**).

II.3.Corrélations entre les substances bioactives et les activités antioxydantes

Les corrélations entre les teneurs des antioxydants (PPT, FT, TC) et les activités antioxydantes (DPPH, FRAP, H₂O₂ et blanchissement du β-carotène) des extraits de la poudre des graines de figue de barbarie sont présentée dans (**Tableau III**).

Tableau III: Corrélations entre les substances bioactives et les activités antioxydantes

	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Tannins
DPPH	0,99	-0,89	-0,26
PR	0,98	-0,71	0,04
H ₂ O ₂	-0,70	0,98	0,82
Blanchissement	-0,82	1,00	0,70

La corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et les activités antioxydantes des extraits de la poudre des graines de figue de barbarie est présentée dans (**Tableau III**).

Les résultats obtenus révèlent une corrélation positive entre les polyphénols totaux et l'activité antiradicalaire (DPPH) des extraits de la poudre des graines de figue de barbarie. Ceci indique que les polyphénols totaux de la poudre des graines de la figue de barbarie

Résultats et discussion

ont une capacité à piéger les radicaux libres. (Fernández López *et al.*, 2010), l'activité antioxydante de la figue de Barbarie cultivée en Espagne est positivement corrélée avec les teneurs en composés phénoliques des extraits.

En plus d'une corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et le pouvoir réducteur des extraits de la poudre des graines de figue de barbarie est positive. Ces résultats obtenus expliqués par la contribution des polyphénols totaux dans l'activité antioxydante. Ceci indique que les extraits phénoliques de la poudre des graines de figue de barbarie ont une bonne capacité à réduire les oxydants. (Chaalal *et al.*, 2012), ont trouvée également une corrélation positive entre les polyphénols totaux et le pouvoir réducteur du fer des extraits des graines de figue de barbarie, sous différents paramètres d'extraction.

Tandis que la corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et H₂O₂, blanchissement de β-carotène des extraits de la poudre des graines de figue de barbarie est négative. Ceci indique qu'une faible contribution des polyphénols totaux dans H₂O₂ et dans blanchissement de β-carotène.

Pour les flavonoïdes, il y'a une corrélation négative entre leurs teneurs et le pouvoir réducteur, DPPH des extraits de la poudre des graines de figue de barbarie. Ceci indique qu'une faible contribution des flavonoïdes dans pouvoir réducteur. Alors qu'il y'a une corrélation positive entre les flavonoïdes et H₂O₂ et blanchissement de β-carotène.

En ce qui concerne les tannins, il existe une très faible corrélation négative entre leurs teneurs et DPPH des extraits de la poudre des graines de figue de barbarie, et il existe une corrélation positive entre les tannins et pouvoir réducteur, H₂O₂, blanchissement de β-carotène.



Conclusion



Conclusion

Dans un contexte général de valorisation alimentaire de la figue de barbarie, nous sommes intéressés aux graines de ce fruit.

Plusieurs tests ont été réalisés en commençant par l'extraction des molécules bioactives, en suite les tests de dosage, (le dosage des polyphénols totaux, les flavonoïdes et proanthocyanidines), et enfin l'évaluation de l'activité antioxydante.

Les résultats ont montré la richesse des graines d'*Opuntia ficus indica* en composés bioactifs notamment les polyphénols ($905,71 \pm 42,50$ mg EAG/100g MS), les flavonoïdes ($50,77 \pm 0,08$ mg EQ/ 100g MS) et les proanthocyanidines ($98,99 \pm 8,19$ mg EC/100g MS). Ce qui justifie la grande importance de cette graine.

Les potentialités antioxydantes des extraits testés sont évaluées par divers mécanismes: piégeage directe de radicaux libres par la méthode du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur, le test de blanchissement de β -carotène et piégeage du peroxyde d'hydrogène. Les résultats *in vitro* ont révélé des activités antioxydantes pour les extraits des graines de figue de barbarie. Une inhibition forte de DPPH ($248,40 \pm 15,06$ mg EAG/100g MS), un pouvoir réducteur important ($382,56 \pm 7,70$ mg EAG/100g MS). En outre, les extraits ont manifestés un pourcentage élevé pour le test de blanchissement du β -carotène ($83,87 \pm 1,76\%$) avec une capacité intéressante moyenne vis à vis le peroxyde d'hydrogène ($62,01 \pm 2,57\%$).

Des corrélations positives et négatives ont été observées entre les différents tests d'activités antioxydantes et les antioxydants dosés. Ceci indique que les capacités antioxydantes révélées *in vitro* ont une relation directe avec le contenu en métabolites secondaires des extraits des graines de figue de barbarie.

Les graines de figue de barbarie constituent une bonne source de composés bioactifs, qui suggère son usage comme aliment et substance fonctionnelle.

Conclusion

Nos perspectives pour l'avenir sont:

- ❖ Caractérisation et identification des métabolites secondaires de la graine ;
- ❖ étudier *in vivo* les propriétés biologiques de ces graines ;
- ❖ élargir le nombre d'échantillons en appliquant des protocoles expérimentaux plus élaborés.



Références Bibliographiques



Références bibliographiques

-A-

Athamen S. (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de Magistère. Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Algérie. P. 47-126

Atmani D., Chafer N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H. & Debbache N. 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem* 112: 303-309

Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, **84**, 551 – 562.

-B-

Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79-82.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta (L.) Briq. Nature & Technologie*, (9), 14 – 19.

Bouzoubaâ Z., Essoukrati Y., Tahrouch S., Hatimi A., Gharby S., Harhar H., (2014). Etude physico-chimique de deux variétés de figuier de barbarie ('Achefri' et 'Amouslem') du Sud marocain. *Les Technologies De Laboratoire*, 8(34), 137-138.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

-C-

Cardador-Martínez, A., Jiménez-Martínez, C., and Sandoval, G. (2011). Revalorization of cactus pear (*Opuntia* spp.) wastes as a source of antioxidants. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31, 782-788.

Chaalal M., Touati N. et Louaileche H. (2012). Extraction of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant capacity of prickly pear seeds. *Acta Botanica Gallica*, 159: 467–475.

Chaalal, M., Louaileche, H., Touati, N., & Bey, M. B. (2013). Phytochemicals, *in vitro* antioxidant capacity and antiradical potential of whole and ground seeds of three prickly pear varieties: A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 49, 386-391.

Chew, M. H., Xu, G. G., Ho, P. W., & Lee, C. W. (2009). A propos d'un cas de syndrome compartimental glutéale après traitement chirurgical d'un anévrisme de l'aorte abdominale. *Annales de chirurgie vasculaire*, **23** (4), 17 – 21.

Références bibliographiques

Chia-chi C.(2002).Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food Chemistry*. 10(03): 178-182.

Chougui, N., Tamendjari, A., Hamidj, W., Hallal, S., Barras, A., Richard, T., &Larbat, R. (2013).Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food chemistry*, 139(1-4), 796-803.

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

-D-

Dehghanian F., Kalantaripour T-P., Esmaeilpoura K., Elyasi L., Oloumid H., Mehdi Poura F and Asadi-Shekaaria M.(2017).Date seed extract ameliorates b-amyloid induced impairments in hippocampus of male rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89: 221-226.

DeMarchi E., Baldassari F., Bononi A., Wieckowski M.R. & Pinton P., 2013 : Oxidative stress in cardiovascular diseases and obesity : role of she and protein kinase C. *Oxidative Medicine and cellular longevity* 1-11.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., and Vidal, N.(2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654-660.

-E-

El Kossori, R. L., Villaume, C., El Boustani, E., Sauvaire, Y., and Méjean, L.(1998).Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)*, 52, 263-270.

-F-

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008) Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*.331: 372-379.

Ferrera A., Proenca C., Serralheiro M.L.M. & Araujo M.E.M. 2006. The *in vitro* screening for acetylcholin esterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*. **108**: 31-37.

Fernández-López J. A., Almela L., Obón J. M. et Castellar R. (2010).Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. *Plant Foods Human and Nutrition*, 65: 253-259.

-G-

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., and Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*, 15, 4324-4333.

Références bibliographiques

Gülçin, I., Alici, H. A., and Cesur, M. (2005). Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 53, 281.

-H-

Habibi, Y. (2004). Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie. Les polysaccharides pariétaux: caractérisation et modification chimique, Thèse soutenue en vue d'obtention du grade de Docteur de l'université Josef Fourier et l'université Cadi Ayyad.

Habibi, Y., Mahrouz, M., and Vignon, M. R. (2005). Arabinan-rich polysaccharides isolated and characterized from the endosperm of the seed of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 60, 319-329.

Hinneburg, I., Damien Dorman, H. J., and Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, 97, 122-129.

Huang, D., Ou, B., and Ronald, L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 1841-1856.

-I-

Iqbal, Z., Sajid, M. S., Abbas, R. A. O. Z., and Sindhu, Z. (2011) Determination of Condensed Tannin Contents from Different Plants of Kherimurat Rangeland (Attock, Pakistan). *Journal of agriculture and social sciences*, 7, 114–116.

-K-

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen., A. (2007) Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*. 100: 584–589.

Kulicic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry* 2004; 85: 633– 640.

-L-

Lee, J. C., Kim, H. R., Kim, J., and Jang, Y. S. (2002). Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 6490-6496.

Leong, L. P., and Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76, 69-75.

Liyana-Pathirana C.M. & Shahidi F. 2006. Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the science of food and agriculture*. 86: 477-485.

Liang N. and Kitts D.D. 2014. Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*. 19(11): 19180-19208.

-M-

- Mohammedi, Z. (2013).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en biologie, Université ABOU BEKER BELKAID, Tlemcen
- Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M., Ismail N., (2009).** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*. Pp306-312.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarim J. Sci. Technol.*, **26**, 211 – 219.
- Moulehi I., Bourgou S., Ourghemmi I., Tounsi M and Saidani. (2012).** Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L) seeds extracts. *Industrial Crops and Products*, **39**: 74-80.

-O-

- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, **49**, 4619 – 4626.
- Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, **44**(6), 307-315.
- Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., and Akev, N. (2008).** Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry*, **110**, 571-583.

-P-

- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowskib. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4), 1– 8.
- Porter, L. J., Hrstich, L. N. and Chan, B. G. 1986.** The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry* **25**: 223– 230.

-R-

- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P., & Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Sciences et techniques du vin. Tome 1. Edition. *Dunod, Paris*, p 671.
- Ruch, R. J., Cheng, S. J. and Klaunig, J. E. 1989.** Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis* **10**: 1003–1008.

-S-

- Schweizer, M. (1997).** "Docteur Nopal, le médecin du Bon Dieu," Aloe Plantes et Beauté.

Références bibliographiques

Sarikurkcu C, BektasTepe B, Daferera D, Polissiou M, Harmandar M. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubiumglobosum* subsp. *Globosum* (lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresource Technology* 2008; 99: 4239–4246.

-T-

Toor, R. K., and Savage, G. P. (2005).Antioxidant activity in different fractions of tomatoes.*Food Research International*, 38, 487-494.

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. (2005).Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae).*Food Chemistry*.90 : 333-340.

Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Daferera, D, Polissiou, M, SokmenA.Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus*subsp*Sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering* 2005; 66(44): 447–454.



ANNEXES



Annexes

Annexe 01: Matériel et produits de laboratoire

Produits et réactifs chimiques	Appareillages, verreries
Eau distillée-Acétone-Folin-Ciocalteu- Na_2CO_3 - Acide gallique- AlCl_3 -Méthanol-Quercétine- Butanol-Hcl- FeSO_4 -DPPH-Ferricyanure de potassium-TCA- FeCl_3 - KH_2PO_4 - K_2HPO_4 - H_2O_2 - β -carotène- Acide linoléique- Chloroforme- Tween 40- BHT	micro-onde-Etuve-Spectromètre-vortex-Balance de précision Micropipette-Plaque agitatrice- rotavapeur-Bain-marie-Eppendof-Papier Wathman-Flacon en verre-Portoir-Entonnoir- Eprouvette-pissette-tubes à essai-tubes à vises

Tableau 1: Les différents réactifs et appareils utilisées pour ce travail

Annexe 02: Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul de teneur en polyphénols totaux

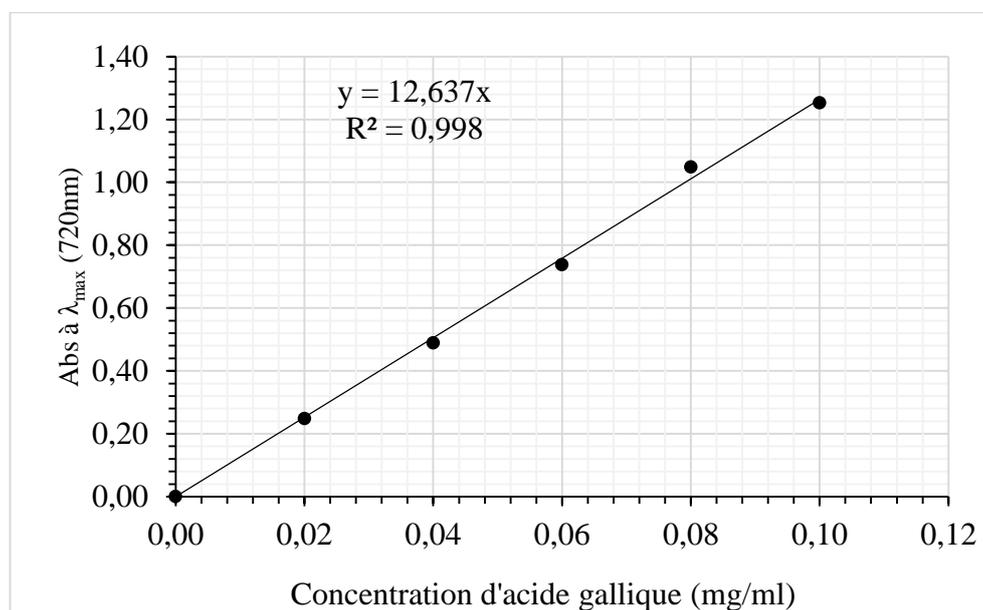


Figure 1: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux ($\lambda=720$).

Annexe 03: Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul de teneur en flavonoïdes

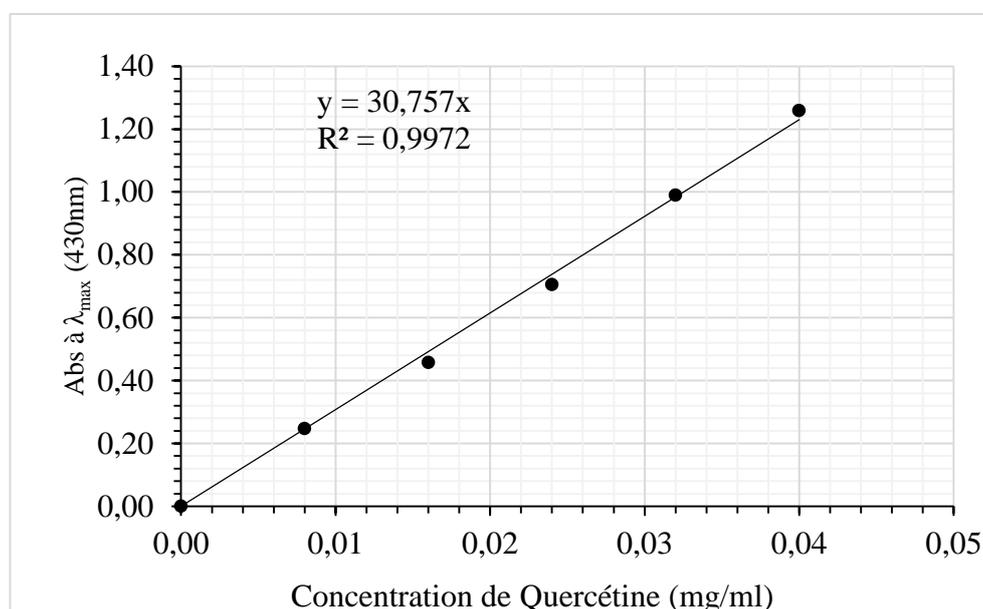


Figure 2: Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes ($\lambda=430$).

Annexe 04: Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul l'activité antiradicalaire

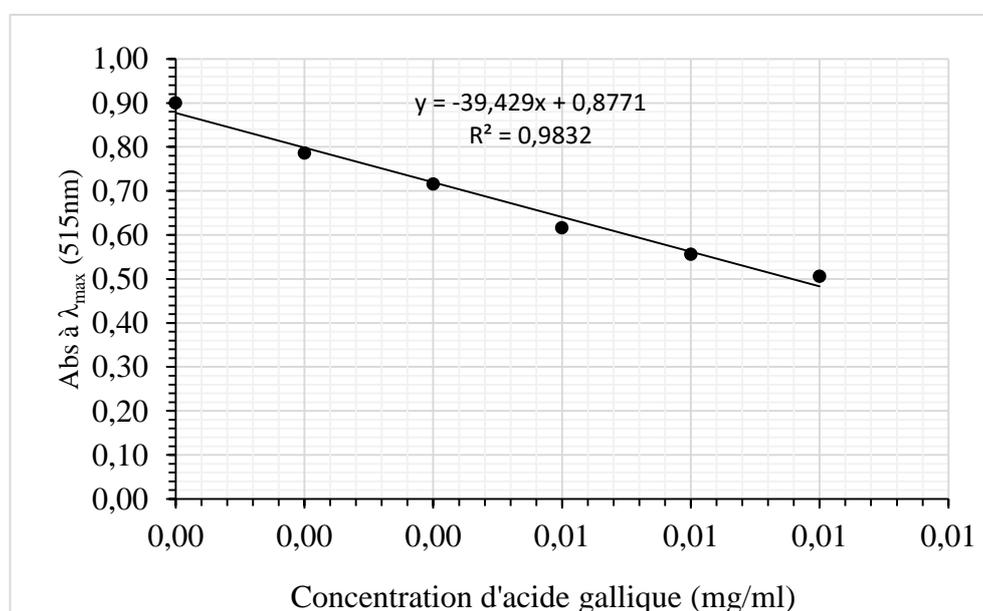


Figure 3: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le calcul de l'activité antiradicalaire ($\lambda = 515$).

Annexe 05: Courbe d'étalonnage utilisé pour le calcul du pouvoir réducteur

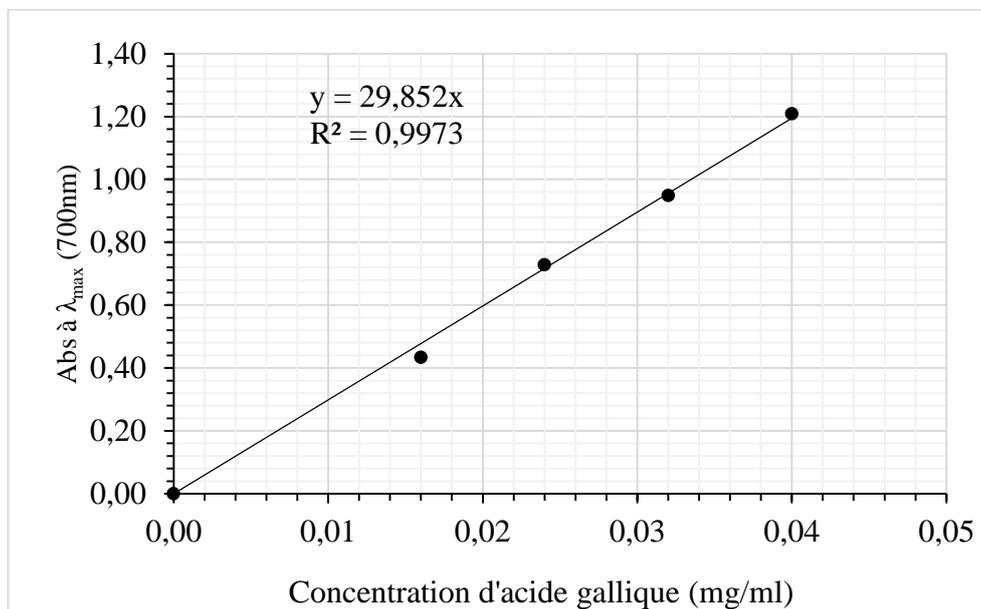


Figure 4: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le calcul de l'activité réductrice ($\lambda=700$)

ملخص

هذا العمل جزء من تبيين مستخلصات بذور OFI. تم استخدام طريقة الاستخلاص بمساعدة لميكروويف لاستخراج المركبات الفينولية. تم إجراء جرعة من هذه المواد المضادة للأكسدة (مجموع المركبات الفينولية، الفلافونويد و proanthocyanidins) وتحديد أنشطتها المضادة للأكسدة (نشاط كاسح للجذر DPPH، قوة الاختزال، اختبار تثبيط بيروكسيد الهيدروجين واختبار التبييض- β كاروتين). أظهرت النتائج التجريبية أن مستخلصات بذور OFI تحتوي على 905.71 ± 42.50 ملجم EAG / 100 ملجم و 50.77 ± 0.08 ملجم EQ / 100 ملجم و 98.99 ± 8.19 ملجم / 100 جم للمركبات الفينولية الكلية والفلافونويد والبروانثوسيانيدين على التوالي. 248.40 ± 15.06 ملجم EAG / 100 ملجم لنشاط الكاسح DPPH، 382.56 ± 7.70 ملجم EAG / 100 ملجم لقوة الاختزال، 62.01 ± 2.57 % لاختبار تثبيط بيروكسيد الهيدروجين و 83.87 ± 1.76 % لاختبار التبييض- β كاروتين. لوحظت العلاقات بين الأنشطة المختلفة ومستويات مضادات الأكسدة. أنها تشير إلى مساهمة هذه المركبات في التأثير الذي تم الحصول عليه. لذلك فإن مستخلصات بذور OFI لها تأثير مثير للاهتمام يجب أن يؤخذ في الاعتبار لعمليات الاستغلال المحتملة الأخرى بالإضافة إلى عمليات استخراج الزيت.

الكلمات المفتاحية:

Opuntia ficus indica، البذور، مضادات الأكسدة، نشاط مضادات الأكسدة و إزالة الجذور الحرة.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des extraits des graines d'*Opuntia ficus indica* (OFI). La méthode d'extraction assistée par le micro-onde a été utilisée pour l'extraction des composés phénoliques. Le dosage de ces antioxydants (composés phénolique totaux, les flavonoïdes et les proanthocyanidines,) et la détermination de leurs activités antioxydante (activité scavenger du radical DPPH, le pouvoir réducteur, le test d'inhibition du peroxyde d'hydrogène et le test de blanchissement du β -carotène) ont été réalisés. Les résultats expérimentaux ont révélé que les extraits des graines d'OFI ont une teneur de $905,71 \pm 42,50$ mg EAG/100g MS, $50,77 \pm 0,08$ mg EQ/100g MS et $98,99 \pm 8,19$ mg EC/100g MS pour les composés phénolique totaux, les flavonoïdes et les proanthocyanidines, respectivement les résultats d'activité antioxydante est de $248,40 \pm 15,06$ mg EAG/100g MS pour l'activité antiradicalaire DPPH, $382,56 \pm 7,70$ mg EAG/100g MS pour le pouvoir réducteur, $62,01 \pm 2,57\%$ pour le test d'inhibition du peroxyde d'hydrogène et $83,87 \pm 1,76\%$ pour le test de blanchissement du β -carotène. Des corrélations entre les différentes activités et les teneurs en antioxydants ont été notées. Elles indiquent la contribution de ces composés dans l'effet obtenu. Les extraits des graines d'OFI présentent donc un effet intéressant qu'il faudrait prendre en considération pour d'autres éventuelles exploitations en plus de celle de l'extraction de l'huile.

Mots clés: *Opuntia ficus indica*, graines, antioxydants, activité antioxydante et antiradicalaire.

Abstract

This work is part of the valorization of extracts of *Opuntia ficus indica* (OFI) seeds. The microwave-assisted extraction method was used for the extraction of phenolic compounds. Determination of these antioxidants (total phenolic compounds, flavonoids and proanthocyanidins) and determination of their antioxidant activities (scavenger activity of the radical DPPH, the reductive power, the inhibition test of hydrogen peroxide and the bleaching test of β -carotene) were carried out. The experimental results revealed that OFI seed extracts contain $905,71 \pm 42,50$ mg EAG/100g MS, $50,77 \pm 0,08$ mg EQ/100g MS and $98,99 \pm 8,19$ mg EC/100g MS for total phenolic compounds, flavonoids and proanthocyanidins, respectively the results of antioxidant activity are $248,40 \pm 15,06$ mg EAG/100g MS for the antiradical activity DPPH, $382,56 \pm 7,70$ mg EAG/100g MS for the reductive power, $62,01 \pm 2,57\%$ for the hydrogen peroxide inhibition test and $83,87 \pm 1,76\%$ for the β -carotene bleaching test. Correlations between different activities and antioxidant levels were noted. They indicate the contribution of these compounds to the resulting effect. Extracts from OFI seeds therefore have an interesting effect which should be taken into account for other possible farms in addition to oil extraction.

Keywords: *Opuntia ficus indica*, seeds, antioxidants, antioxidant activity and antiradicalar.