

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Biologique  
Spécialité : Sciences Alimentaires  
Option : Bioprocédés et Technologie Alimentaire



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

### ***Thème***

**Effet de la granulométrie et de solvant sur la  
composition phénolique et l'activité  
antioxydante des extraits de fleurs d'*Opuntia*  
*Ficus indica***

Présenté par :

**Ouotmani Dihia & Mertousse Farida**

Soutenu le : **18 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup>: Fella S.

M<sup>elle</sup> : Brahmi F.

M<sup>elle</sup>: Achat S.

MAA

MAA

MCB

Présidente

Encadreur

Examinatrice

**Année universitaire : 2016/2017**

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents pour leur amour, leur sacrifice, leur encouragement,  
Pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont enseignées Pour leur  
soutien et leur confiance notamment durant mes études.*

*A ma sœur akila, son mari mouhemed et Son fils abd alime*

*A ma sœur Fouzia, son mari hamza et son fils saif edine et mon cher fiancé  
amine*

*A ma sœur fahima*

*A mes oncles, mes tantes et toute ma famille*

*A ma binôme dihia*

*A toute la promotion bioprocédé et technologie alimentaire*

*A toutes mes amies, en particulier : kahina ,yassmine ,Lamia, Siham, lila et  
Souhila ,luiza ,sarah et fawzi ,hamza ,*

*Farida M*

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents pour leur amour, leur sacrifice, leur encouragement,  
Pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont enseignées Pour leur  
soutien et leur confiance notamment durant mes études.*

*A mes sœurs :*

*Kahina, naima, aicha, pour leur amour et leur tendresse.*

*A mes chère freres :*

*Mahdi ,yassin.*

*Et surtout pour mon fiancé nassim pour son encouragement*

*A mes ancles et leurs familles, toutes mes tantes, sans oublier mes petits cousins.*

*A tous mes amis (es) pour leur soutient, aide, présence et surtant pour leurs  
compréhension lamia, sabrina, celia et pour ma binôme farida.*

*A toute la promotion bioprocéde et technologie alimentaire*

*Merci pour tous ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre dans ce  
travail, Je les remercie du fond du cœur.*

**Dihia O**

# Remerciements

*D'abord nous remercions notre dieu le tout puissant qui nous protège tout le temps, et qui nous a donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier très particulièrement notre promotrice M<sup>elle</sup> Brahmi. F pour son aide, ses conseils, son orientation et sa grande gentillesse.*

*Toutes nos expressions de respect à M<sup>me</sup> fella. S qui nous a fait honneur par sa présence en qualité de présidente de jury*

*Nos sincères remerciements et considérations sont exprimés à M<sup>elle</sup> Achat. S qui a accepté d'examiner ce travail et de consacrer de son temps pour l'évaluer.*

*Nous remercions aussi M<sup>elle</sup> Yallaoui. S pour son amitié, sa disponibilité et tout ce qu'elle nous a appris.*

*Sans oublier toutes les membres de laboratoire de science alimentaire, techniciennes, doctorants et profs.*

## *Liste des figures*

<b>Figure 1 :</b> Présentation des différentes parties de la plante de cactus.....	6
<b>Figure 2 :</b> Structure de base des flavonoïdes.....	9
<b>Figure 3:</b> Structure de base des anthocyanes.....	9
<b>Figure 4:</b> photographie de <i>ficcus carica indica</i> dans la région de la récolte. ....	14
<b>Figure 5:</b> Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).....	17
<b>Figure 6 :</b> Effet de la granulométrie et de solvants sur le rendement d'extraction.....	19
<b>Figure 7 :</b> Effet de la granulométrie et de solvants sur les teneurs en polyphénols totaux des extraits des fleurs de cactus.....	20
<b>Figure 8 :</b> Effet de la granulométrie et de solvants sur les teneurs en flavonoïdes des extraits des fleurs de cactus. ....	23
<b>Figure 9:</b> Effet de la granulométrie et de solvants sur les teneurs en anthocyanines des extraits des fleurs de cactus. ....	25
<b>Figure 10 :</b> Effet de la granulométrie et de solvant sur l'inhibition du radical DPPH• par mes extraits des fleurs de cactus.....	26
<b>Figure 11 :</b> Effet de la granulométrie et de solvants sur la réduction de molybdate par mes extraits des fleurs de cactus.....	28

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I :</b> position systématique du figuier de barbarie.....	3
<b>Tableau II:</b> Distribution et contenu des phénols et des flavonoïdes dans les fleurs d' <i>O. ficus-indica</i> .....	8

## Liste des abréviations

- ❖ **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- ❖ **AsC<sup>•</sup>H** : Radical ascorbatetricarbone
- ❖ **DPPH** : Diphényle-picryl-hydrazyle
- ❖ **EAM** : Extraction assistée par ultrasons
- ❖ **ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- ❖ **Flv** : Flavonoïdes
- ❖ **GAE** : Equivalent acide gallique
- ❖ **GPx** : Glutathion peroxydase
- ❖ **HOCl** : Acide hypochloreux
- ❖ **PPT** : Polyphénol totaux
- ❖ **R** : Rendement
- ❖ **RL** : Radicaux libres
- ❖ **SOD** : Superoxydedismutase



**SOMMAIRE**

<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>

## **Partie I : Synthèse Bibliographique**

<b>I.1. Présentation de la matière végétale étudiée.....</b>	<b>3</b>
I.1.1. Dénomination et position systématique.....	3
I.1.2. Famille des Cactaceae.....	3
I.1.3. Répartition géographique et divers utilisation scio- économiques.....	4
I.1.4. Description des différentes parties d' <i>Opuntia ficus indica</i> (raquette, fleur et épine) .....	5
I.1.5. Propriétés fonctionnelles des composés phénoliques des fleurs d' <i>Opuntia ficus indica</i> et leurs utilisations.....	6
I.1.5.1. Effet thérapeutiques.....	6
I.1.5.2. Activité antimicrobienne.....	6
I.1.5.3. Utilisation industrielle.....	7
I.1.6. Composition chimique de la fleur d' <i>Opuntia</i> .....	7
<b>I. 2. Composés phénoliques.....</b>	<b>8</b>
I.2.1. Principaux composés phénoliques.....	8
I.2.2. Propriétés des composés phénoliques.....	9
I.2.2. 1. Propriétés antioxydantes.....	10
<b>I.3. Méthodes d'extraction des composés phénoliques.....</b>	<b>12</b>
I.3.1. Extraction assistée par micro-ondes.....	13
I.3.2. Extraction par macération.....	13
I.3.3. Extraction au soxhlet.....	13
I.3.4. Extraction assistée par ultrasons (EAU) .....	13

## Partie II : partie pratique

<b>II.1. Matériel</b> .....	14
II.1.1 La récolte.....	14
II.1.2.Préparation des échantillons.....	14
<b>II.2.Méthodes</b> .....	14
II.2.1. Extraction.....	14
II.2.1.1. Extraction des composés phénoliques par ultrasons.....	15
II.2.1.2. Calcule de rendement d'extraction.....	15
<b>II.3. Analyse colorimétrique par spectrophotométrie (UV-visible)</b> .....	15
II.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols .....	15
II.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes .....	16
II.3.3. Détermination de la teneur en anthocyanine.....	16
<b>II.4. Evaluation de l'activité antioxydant</b> .....	17
II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant par le test au diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH) .	17
II.4.2.Evaluation de l'activité antioxydant par le test au phosphomolybdate.....	17
<b>II.5.Etude statistique</b> .....	18

## III Résultats et discussion

<b>III.1. Rendement d'extraction</b> .....	19
III.2. Estimation quantitative des polyphénole totaux.....	20
III.3.Dosage des flavonoïdes.....	22
III.4.Dosages des anthocyanine.....	24
III.5. Evaluation de l'activité antioxydants.....	26
III.6. Evaluation de l'activité antioxydant par le test au phosphomolybdate.....	27
<b>Conclusion</b> .....	30

## Référence Bibliographique

Annexe

Résumé



# *Introduction*

Le cactus est une plante xérophyte qui produit des fruits comestible et du fourrage pour le bétail, ses raquettes sont riches en eau et en éléments nutritifs. Il peut être considéré comme une espèce adéquate pour une agriculture durable des régions arides et semi-arides grâce à sa résistance à la sécheresse et sa contribution dans l'alimentation de l'Homme et du bétail. Par conséquent, le cactus peut être une alternative pour le développement durable de ces régions grâce à son adaptation au climat de ces zones, son importance économique et sa valeur nutritionnelle et sa composition riche surtout en composés phénoliques qui jouent un rôle primordial dans la prévention de nombreuses maladies (**Arba, 2009**).

Les composés phénoliques sont des constituants importants en raison de leur contribution au goût et la couleur du fruit (**Veberic et al., 2008**). Ces dernières années, les composés phénoliques sont un sujet d'intérêt de nombreuses recherches scientifiques en raison de leurs effets positifs sur la santé humaine, attribués principalement à leurs activités antioxydantes. L'extraction est une étape importante dans l'isolement et dans l'identification et la quantification des composés phénoliques (**Cacace et Mazza, 2003**).

Il est très difficile de développer une méthode d'extraction normalisée qui est capable d'extraire tous les composés phénoliques inséparables (**Naczka et Shahidi, 2006**). L'extraction dépend du type de solvant, de la nature et de la préparation du matériel à extraire, de la structure chimique des composés phénoliques, de la température, de temps d'extraction, de rapport solide-liquide et de la taille des particules. L'extraction solide-liquide, est communément utilisée pour l'isolement des composés phénoliques du matériel végétal. La sélection du solvant est l'une des plus importantes étapes de l'extraction. Le méthanol, l'éthanol ou le propanol et leurs mélanges avec l'eau, ainsi que l'acétone, l'éthyle acétate et le diméthylformamide sont jusqu'à présent les solvants les plus utilisés dans l'extraction de composés phénoliques des matériaux végétaux (**Bucić-Kojić et al., 2011**).

Il est à noter aussi que l'éthanol additionné de l'eau est le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques à partir des fleurs de cactus. L'éthanol solubilise correctement les composés phénoliques moyennement polaires et peut entraîner aussi des substances lipophiles résiduelles. L'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement en composés phénoliques (**Poncet-Legrand et al., 2003**).

## ***Introduction***

---

Il ressort aussi de ce qui précède qu'avec les fines particules, les composés chimiques sont plus facilement transférés de la matière végétale vers le solvant d'extraction. Cela s'expliquerait par le fait que le solvant diffuse plus facilement à l'intérieur des petites particules pour extraire les molécules de polyphénols (**Petkoel al., 2010**).

L'objectif de cette étude est donc d'étudier l'impact de solvant (l'éthanol pur et 50% et l'eau) et de la taille des particules (<125, 250, 500 et 1000 µm) sur l'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre de fleurs de cactus de la région de Bejaia. Nous souhaitons ainsi à travers ce travail répondre à une question d'importance majeure qui est : quels sont les optimums de deux paramètres très utiles pour une meilleure extraction de principaux antioxydants (composés phénoliques et anthocyanines) à partir d'une matrice naturelle très répandue dans notre pays et de 28000 hectares en 2015, et 1hectare (100 tonne) requête .

Afin de répondre à cette problématique, notre travail est devisé en trois parties. Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur la plante étudiée, les métabolites secondaires ainsi que sur le stress oxydant. Nous développerons dans la deuxième partie le matériel et l'ensemble des techniques et méthodes utilisées pour l'extraction des composés phénoliques à partir des fleurs de cactus, le dosage colorimétrique (des polyphénols, des flavonoïdes et les anthocyanines) et les activités anti-oxydantes (tests au DPPH et au phosphomolybdate). La troisième partie sera consacrée aux résultats obtenus en montrant l'effet de solvant d'extraction et aussi l'influence de la granulométrie sur le rendement d'extraction.

Une conclusion générale est donnée à la fin du présent travail en tirant les principaux résultats obtenus. Ces derniers pourraient stimuler d'autres travaux de recherche dans le sens de servir et de valoriser le patrimoine national dans le domaine des plantes médicinales.

*Partie I*

*synthèse*

*bibliographique*

## I.1. Présentation de la matière végétale étudiée

### I.1. 1. Dénomination et position systématique

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressées à l'étude d'une partie d'une plante (fleur) dont le nom commun est le figuier de Barbarie, les autres noms attribués à cette espèce sont : figuier des Indes, figue du désert, nopal, semelle du pape, figuier d'Espagne (Guzman *et al.*, 2003).

**Tableau I** : position systématique du figuier de barbarie (Guzman *et al.*, 2003).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Caryophyllidae
<b>ordre</b>	Caryophyllales
<b>famille</b>	Cactaceae
<b>Sous- famille</b>	Opuntioideae
<b>Tribu</b>	Opuntieae
<b>genre</b>	<i>Opuntia</i>
<b>Sous-genre</b>	<i>Platyopuntia</i>
<b>espèce</b>	<i>Opuntia ficus indica</i>

### I.1.2. Famille des Cactaceae

Les Cactaceae sont des végétaux phanérogames appartenant à la classe des angiospermes, dicotylédones, polypétales. La famille des Cactaceae renferme environ 1600 espèces avec le centre de la diversité maximale au Mexique qui abrite 669 espèces (Guzman *et al.*, 2003).

Ce sont des herbes vivaces, des arbres ou des arbustes apparemment aphyllés, dont l'appareil assimilateur est constitué par un rameau ou un système de rameaux charnus, épineux, à surface lisse ou ridée, continue ou articulée. Les fleurs sont solitaires, rarement groupées en panicules, hermaphrodites, actinomorphes ou faiblement zygomorphes. Le

périanthe est formé de très nombreuses pièces souvent concrescentes à la base, la plupart pétaloïdes et brillamment colorées, les plus externes tendant toutefois à devenir sépaloïdes. Les étamines sont extrêmement nombreuses, se réunissant souvent à leur base avec la partie interne du tube périanthaire. Le pistil est formé d'un ovaire infère, inclus dans un réceptacle cupuliforme, uniloculaire, contenant un nombre indéfini d'ovules répartis sur des placentas pariétaux. Le style est très long, grêle, portant à son extrémité autant de stigmates qu'il existe de placentas (**Lavastine, 1948**).

Le fruit est le plus souvent charnu, c'est alors une baie renfermant dans sa pulpe de très nombreuses graines ; chacune de celles-ci contient un embryon enroulé autour d'un albumen réduit. La place que doivent occuper les Cactaceae dans le règne végétal a été très discutée. A.-L. De Jussieu admet que les genres *Cactus* et *Ribes* sont de la même famille. De Candolle, dans son *Prodomus*, range les Cactacées à côté des Grossulariées. Hutchinson crée un ordre spécial, celui des Cactales, se rapprochant des Pariétales (Passiflores) à cause de leurs péricarpes uniloculaires et de leurs placentas non saillants (**Lavastine, 1948**).

### **I.1.3. Répartition géographique et diverses utilisations socio-économiques**

Cette plante a été adoptée par l'Homme pour différentes fins comme : fruit consommé frais ou conservé, fourrage sur pied (raquette), légumes (jeune raquette = "Nopalitos"), plante pharmaceutique (fleurs, cladodes), plante industrielles (confiture, jus, colorants naturels, boisson alcoolisée, produits cosmétiques), plante apicole, outil de contrôle contre l'érosion en agroforesterie et en amélioration pastorale et plante clôture/haie. Elle peut pousser dans des climats arides et semi-arides avec une répartition géographique englobant le Mexique, l'Amérique latine, l'Afrique du Sud et les pays de la Méditerranée (**Valente et al., 2010**).

Elle a été plantée dans de nombreux périmètre dans le cadre des projets de développement agricole et dans des programmes de lutte contre la sécheresse dans des terrains collectifs ou privés. Le Maroc, qui a connu des années de sécheresses successives, gagnerait à développer la culture de cette plante et à intensifier la vulgarisation de son usage en tant que source de fourrage et même son industrialisation (**Walali, 1997 ; Arba et al., 2000**).

En Algérie, certaines nouvelles espèces ont été citées et identifiées du point de vue phénologique et morphologique, comme les espèces *Opuntia engelmannii* et *Opuntia scheerii* qui sont génétiquement très différentes (**Hadjkouider et al., 2010**).

#### I.1.4. Description des différentes parties d'*Opuntia ficus indica* (raquette, fleur et épine)

*Opuntia ficus indica* communément appelées figuier de Barbarie ou cactus Nopal, appartient à la famille des cactacées. C'est une famille qui comprend environ 1500 espèces de cactus genre *Opuntia*. C'est une plante tropicale et subtropicale, dicotylédone caractérisée par ces feuilles réduites en épines, qui présente une grande capacité d'adaptation aux conditions les plus hostiles et produit une biomasse importante d'une manière très efficace (Arba, 2000).

##### *La raquette*

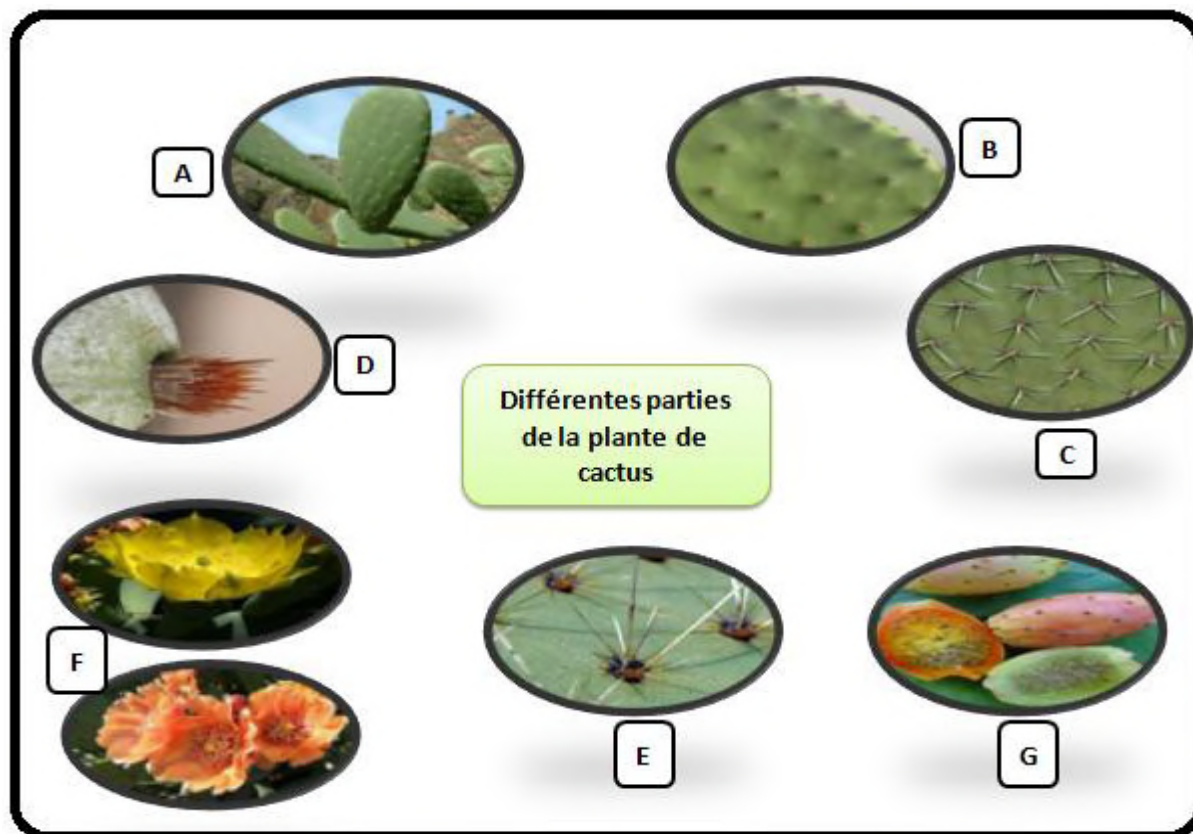
Les espèces d'*Opuntia* sont des plantes vivaces. Elles ont une hauteur de quelques centimètres à plus de 6 m, un système racinaire charnu, superficiel et à dispersion horizontale (Sudzuki, 1995) et une tige charnue ou ligneuse couverte d'un épiderme. Cet épiderme est formé des cellules minces avec une paroi externe imprégnée d'une substance lipidique appelée cutine recouverte de cires. La tige et les rameaux sont divisés en longueur pour donner des raquettes cylindriques ou aplatis ayant une longueur moyenne de 30 à 50 cm et une largeur moyenne de 15 à 30 cm. La couleur des raquettes est verte (Figure 1) (Scheinvar, 1995).

##### *La feuille*

Les feuilles des espèces d'*Opuntia* sont réduites en épines et il est parfois difficile de les identifier ou de retrouver leurs cicatrices. Les aréoles qui sont de petite protubérance à la surface des cactées d'où émergent les aiguillons ou les soies, portent des épines et des poils spéciaux appelés les glochides. Ces épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées, avec une longueur de 1 à 2 cm. Il existe des variétés inermes (sans épines) (Figure 1). A partir des tissus méristématiques des aréoles se développent les nouvelles cladodes, racines et fleurs (Sudzuki, 1995).

##### *La fleur*

Les fleurs sont hermaphrodites, solitaires et de différentes couleurs selon les espèces avec des sépales, des pétales et des étamines en nombre indéfini et en disposition spiralée. Leur gynécée est formé par un ovaire inféré constitué de 5 carpelles soudées qui se transforme à maturité en un fruit comestible (Figure 1) (Nerd et al., 1991; Sudzuki, 1995).



**Figure 1 :** Présentation des différentes parties de la plante de cactus (Nerd et al., 1991).  
 A : Raquette d'*Opuntia Spp*, B : Aréoles d'*Opuntia ficus indica* (inermes), C: Aréoles d'*Opuntia* munies d'épines D : Glochides d'*Opuntia aciculata*, E : Aiguille d'*Opuntia leucotricha*, F : Fleurs d'*Opuntia ficus indica*, G : Fruits d'*Opuntia spp*.

### I.1.5. Propriétés fonctionnelles des composés phénoliques des fleurs d'*Opuntia ficus indica* et leurs utilisations

#### I.1.5.1. Effet thérapeutiques

Une étude est réalisée par Saidi et al. (2016), a montré les effets antioxydants et antibactériens des extraits de fleurs d'*Opuntia* et leur capacité à améliorer la cicatrisation des plaies. Les fruits du cactus, les cladodes ou les infusions de la fleur ont été utilisés traditionnellement pour traiter d'autres maladies telles que les ulcères, les allergies, la fatigue et le rhumatisme.

Jonas et al. (sd) ont démontré l'efficacité du broyat de fleurs de cactus dans le traitement d'HBP (Benign prostatic hyperplasia) par inhibition des activités des enzymes telle que l'aromatase et 5 -alpha- réductase ainsi que de peroxydation lipidique.



### I.1.5.2. Activité antimicrobienne

Les fleurs d'*Opuntia ficus indica* sont efficaces dans l'inhibition de la croissance des champignons et des bactéries. Plusieurs études ont attribué l'effet inhibiteur des extraits végétaux contre les agents pathogènes bactériens à leur composition phénolique (**Baydar et al., 2004; Rodriguez Vaquero et al., 2007**). L'effet inhibiteur exercé par ces composés phénoliques s'explique par leur adsorption par les membranes cellulaires, leur interaction avec les enzymes et le substrat et par la privation d'ions métalliques (**Scalbert, 1991**). Une meilleure activité antimicrobienne est exercée après purification des composés phénoliques comparativement aux extraits bruts de fleur d'*Opuntia ficus indica*. Ainsi, les composants purifiés peuvent être utilisés comme agents antimicrobiens naturels dans les systèmes alimentaires, ainsi que pour empêcher la croissance de bactéries d'origine alimentaire, ce qui entraîne une extension de la durée de conservation des aliments transformés (**Rabhi et al., 2015**).

### I.1.5.3. Utilisation industrielle

Les pigments naturels comme les bétalaïnes existent avec une teneur très élevée dans le cactus notamment dans les fleurs. Ces composés peuvent être utilisés principalement comme colorant alimentaires qui ne requièrent pas de traitement thermique tels que les glaces alimentaires, les yaourts, les friandises, les desserts, les sirops et les sauces. Ces colorants naturels n'ont pas un E-numéro, ce qui permet au produit alimentaire coloré par ces substances naturelles de garder un label Bio. En outre, ces colorants extraits de légumes et fruits augmentent de la valeur nutritionnelle du produit concerné (**Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010**).

Les produits des extraits de fleurs d'*Opuntia* sont aussi utilisés comme inhibiteurs de la corrosion de divers métaux. Cette activité peut être attribuée à la présence de composés hétérocycliques comme les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et la cellulose. Ces composés forment une mince couche sur la surface métallique, empêchant ainsi la corrosion (**Saidi et al., 2016**).

### I.1.6. Composition chimique de la fleur d'*Opuntia*

Le suc de la fleur de *Opuntia ficus indica* est plus visqueux que celui des raquettes. Il contient à peu près les mêmes principes que la tige auxquels, mais il renferme également des dérivés flavoniques ainsi d'autres composés comme le montre le tableau (Tableau II).

**Tableau II:** Distribution et contenu des phénols et des flavonoïdes dans les fleurs d'*O. ficus-indica* (El-Mostafa et al., 2014).

Composante principale identifiée	Contenu en mg /100g
Acide gallique	1630-4900
Quercitine 3-O-Rutinoside	709
4 kaempferol 3-O-Rutinoside	400
5 Quercitin 3-O- Glucoside	447
6 Isorhamntine 3-O- Robinobioside	4269
7 Isorhamntine 3-O- Galactoside	979
8 Isorhamntine 3-O- Glucoside	724
9 Kaempferol 3-O -Arabinoside	324

## I.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, non essentiels à la survie de la plante. Au niveau du végétal, les composés phénoliques sont un moyen de défense contre les rayonnements U.V, les agressions par les pathogènes et ils contribuent à la pigmentation des plantes (Manach et al., 2004; Ignat et al., 2011), Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique et d'un ou plusieurs groupements phénoliques dans leur structure et se différencient par le nombre et l'enchaînement des noyaux aromatiques, le nombre et la position des groupes hydroxyles ainsi que la présence de divers substituants (groupes alkyles, glycosyles, acides organiques...) (Macheix et al., 2006; Hollman et al., 2010).

### I.2.1. Principaux composés phénoliques

Il existe plusieurs catégories de composés phénoliques, toutefois nous allons présenter les plus abondants dans le matériel végétal étudié (fleurs d'*Optuntia*) qui sont les flavonoïdes, les acides phénoliques et les anthocyanines.

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire possédant un squelette carboné en C6-C3-C6. Ils sont constitués d'un squelette à 15 atomes de

carbone (Figure 2) formant 2 noyaux aromatiques (A et B) et un hétérocycle (C) à oxygène dont la nature définit l'apparence déterminé (Erdman et al., 2007; Ignat et al., 2011). Les principaux groupes des flavonoïdes sont les flavanones, les flavones et les flavonols.

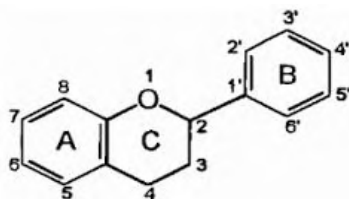


Figure 2. Structure de base des flavonoïdes (Erdman et al., 2007).

#### ▪ Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont principalement représentés par les acides hydrocinnamiques et les acides hydrobenzoïques qui sont peu répandus. Les acides hydrocinnamiques sont des dérivés de l'acide cinnamique, constitué d'un noyau phénolique de type C6-C3 (M'Hiri, 2015).

#### ▪ Anthocyanes

Les anthocyanes constituent le groupe de pigments solubles dans l'eau le plus important, ils sont dissous dans les vacuoles épidermique des fleurs et des tissus auxquels ils donnent des couleurs rose rouge bleu et violet (Mazza et Miniati, 1993). Plusieurs centaines de molécules sont connues, elles varient selon le nombre de position des différents groupements hydroxyle et méthoxyle, la nature, le nombre et la position des sucres et l'acylation éventuelle de ses sucres (Figure 3). Ils sont très rarement présents sous forme d'aglycones, les anthocyanes les plus fréquents sont les 3-glycosides ou les 3,5-diglycosides de pélagonidine, cyanidine, péonidine, delphinidine, pétunidine, malvidine, leur couleur varie selon le pH (Clifford, 2000).

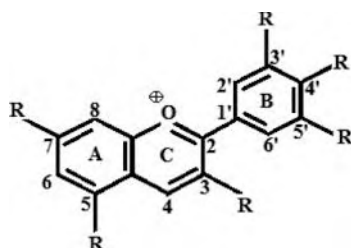


Figure 3: Structure de base des anthocyanes.

## I.2.2. Propriétés des composés phénoliques

Les composés phénoliques, de par leur structure phénolique, sont des agents réducteurs capables de réagir avec les radicaux libres produits par notre organisme. Les composés phénoliques, apportés par l'alimentation, renforceraient les défenses antioxydantes de l'organisme en captant les radicaux libres et protégeraient les lipides, les protéines et l'ADN des dommages oxydatifs. Cependant, une fois ingérés, les composés phénoliques sont métabolisés, les modifications structurales peuvent alors entraîner des variations de leurs activités (**Koga et Meydani, 2001; Turner et al., 2004**). Les composés phénoliques peuvent agir en tant qu'antioxydants de différentes manières.

### I.2.2. 1. Propriétés antioxydantes

- **Radicaux libres et stress oxydatif**

Notre organisme est normalement soumis à un stress oxydatif. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas des ressources enzymatiques et antioxydantes suffisantes pour les éliminer (**Gardès-Albert et al., 2003**).

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) sur leur couche externe, ils jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire ; la phagocytose et la communication cellulaire (**Peynet et al., 2005**). Ces RL sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un RL attaque la molécule stable la plus proche en lui volant son électron, et la molécule attaquée devient alors elle-même un RL. Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (**Fosting., 2004**).

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (**Aravodis, 2005**). Les cibles biologiques les plus vulnérables à cet endommagement oxydatif sont : l'acide

désoxyribonucléique (ADN) (modification des bases, cassure des brins), les protéines (modification structurales et fonctionnelles) et les lipides (peroxydation lipidique) (**Hu et al., 2005**).

Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans 3 catégories : la prévention à temps plein, la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive (**Viroth, 2004**). La prévention à plein temps est un système qui agit en permanence pour prévenir la surproduction de radicaux libres de l'oxygène en inactivant les molécules endogènes (Fe, Cu) ou exogènes (quinone) susceptibles de les générer. Par exemple, la liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH physiologique rend ce métal incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres (**Viroth, 2004**).

La détoxification active à la suite d'une attaque oxydante est un système de défense qui repose principalement sur 3 enzymes (**Valko et al., 2006**) : la superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde ( $H_2O_2$ ) et en oxygène, la catalase : cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes. Elle permet de convertir deux molécules de  $H_2O_2$  en deux molécules  $H_2O$  et  $O_2$ . La glutathion peroxydase est une enzyme à cofacteur de sélénium localisé dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène.

La détoxification passive permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle inclut tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser les radicaux libres par des molécules telles que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque, etc. (**Valko et al., 2006**).

#### ▪ Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ou micro constituants capables d'interférer avec les radicaux libres. Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères (**Valko et al., 2006**).

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.

-Chélater des ions de métaux de transition ( $Fe^{2+}, Cu^{2+}$ ) d'importance biologique capable de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton.

- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- Avoir un effet positif sur l'expression génétique.
- Être rapidement absorbé.
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

Les principaux systèmes antioxydants enzymatiques les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (. Les antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols (glutathion, acide lipoïque et acide urique) (Valko et al., 2006). Les antioxydants chimiques exogènes, eux, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et les composés phénoliques (McCall et Frei, 1999).

#### ▪ Mécanismes de réactions de l'activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante et antiradicalaire mesure le pouvoir des antioxydants à inhiber ou retarder l'oxydation (Mancebo-Campos et al., 2014). Il existe plusieurs méthodes qui mesurent l'inhibition de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines *in vitro* ainsi que celle mesurant le pouvoir antioxydant *in vivo* chez les animaux ou l'Homme (Prior et al., 2005). Nous allons nous focaliser sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante. Les antioxydants peuvent inhiber les radicaux libres suivant deux principaux mécanismes, les réactions de transfert d'électrons et les réactions de transfert d'ions d'hydrogène ( $H^+$ ). Le résultat final est le même, quel que soit le mécanisme, mais la cinétique et le potentiel de réactions secondaires sont différents. Les deux mécanismes peuvent se produire en parallèle, et le mécanisme dominant dans un système donné sera déterminé par la structure et les propriétés de l'antioxydant, sa solubilité et le système du solvant. L'énergie de dissociation et le potentiel d'ionisation sont les deux facteurs majeurs qui déterminent le mécanisme et l'efficacité d'un antioxydant (Wright et al., 2001).

L'extraction des composés phénoliques est une voie de valorisation de ces coproduits (fleurs) qui permet d'une part de développer une nouvelle activité économique et de participer au développement.

### **I.3. Méthodes d'extraction des composés phénoliques**

La complexité de la structure et la variabilité avec les saisons et les récoltes de la matière végétale ainsi que la large variété des composés à extraire (différents poids moléculaires, polarité, lien avec la structure, etc.) ont conduit à l'apparition d'une grande variété de technologies d'extraction parmi lesquelles :

#### **I.3.1. Extraction assistée par micro-ondes**

L'extraction assistée par Micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des microondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction (Florent, 2011).

#### **I.3.2. Extraction par macération**

C'est une méthode traditionnelle, couramment employée et qui consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteur incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction...etc (Spigno et Defaveri, 2007 ; Budic-letoc et al., 2005).

#### **I.3.3. Extraction au soxhlet**

L'extracteur de Soxhlet permet le traitement des solides (matière végétale) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps en verre de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose (matière pénétrable pour le solvant) remplie de matière végétale. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant (Herzi, 2013).

Dans notre travail nous avons opté à l'utilisation de la méthode suivante :

#### **I.3.4. Extraction assistée par ultrasons**

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente utilisée pour l'extraction des composés naturels. Ces composés sont souvent extraits par la méthode conventionnelle qui dure de nombreuses heures. L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en quelques minutes avec une reproductibilité élevée, ce qui simplifie l'opération et donne une plus grande pureté au produit final (Chemat et al., 2011).

Les ultrasons interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Un effet de cavitation est créé, ce qui facilite la libération des composés extractibles et améliore le transfert de matière en perturbant les parois cellulaires des plantes (**Chemat et al., 2011**). Le choix approprié du solvant et de la température permet une meilleure extractibilité des composés phénoliques. De plus, l'optimisation des paramètres d'extraction assistée par ultrasons tels que la fréquence, la puissance des ultrasons, le temps d'extraction ainsi que la distribution d'ondes ultrasonores permet aussi d'augmenter le rendement d'extraction (**Wang et Weller, 2006**).



***Partie II***

***Partir pratique***

## II.1. Matériels (Annexe I)

### II.1.1. Récolte

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne fleurie d'*Opuntia Ficus indica* (Figure 4) qui a été récoltée dans la région de Barbacha, une localité située à une trentaine de km de la wilaya de Bejaia, durant la période de floraison et de fructification (avril-mai 2016).



**Figure 4:** photo d'*Opuntia ficus indica* dans la région de la récolte.

### II.1.2. Préparation des échantillons

Une fois la récolte du matériel végétal est réalisée, l'échantillon est séché à l'aire libre dans un endroit bien sec pendant 15 jour puis broyé à l'aide d'un broyeur électrique qui tourne à vitesse de 1000 tr/min puis la poudre subi un tamisage afin d'obtenir les différentes granulométries (<1mm ; <500 $\mu$ m ; <250 $\mu$ m ; <125 $\mu$ m), qui seront utilisées par la suite pour la préparation des extraits bruts.

Les poudres obtenues sont par la suite conservées dans des sachets en papier à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives contenues dans la poudre.

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Extraction

La première étape dans la préparation des extraits végétaux est le broyage du matériel végétal, sous cette forme broyée, la plante présentera une plus grande surface de contact avec les solvants extracteurs, permettant ainsi d'améliorer le rendement des extractions.

#### II.2.1.1. Extraction des composés phénoliques par ultrasons

L'extraction des composés phénoliques à partir des fleurs de cactus a été réalisée selon la méthode décrite par **Brahmi et al. (2015)** effectué dans un bain à ultrasons avec une

fréquence de 42 kHz et une puissance de 30 W. Deux solvants avec une polarité différente éthanol 50% (v/v), éthanol 100% (v/v) et eau distillée ont été utilisés pour l'extraction de composés biologiquement actifs. En bref, 0,8 g de poudre de fleurs ont été pesées dans un tube à centrifuger de 50 mL avec bouchon à vis, puis 30 mL de solvant ont été ajoutés à l'échantillon. Les tubes ont été placés dans un bain à ultrasons à 25 °C pendant 10 min. Chaque extrait a été filtré, puis les solvants ont été évaporés à sec.

### II.2.1.2. Calcul de rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = \frac{(\text{poids du bécher après extraction} - \text{poids du bécher vide})}{\text{poids de l'échantillon}} \times 100$$

## II. 3. Analyse colorimétrique par spectrophotométrie (UV-visible)

Les extraits obtenus ont été soumis à une série de dosages spectrophotométriques afin de quantifier leur taux en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux, en anthocyanines et l'évaluation de l'activité antioxydante.

Les analyses quantitatives des composés des différents extraits sont déterminées à partir des équations de régression linéaires des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent g de la matière végétal sèche.

### II.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu adoptée par **Li et al. (2007)**. Le réactif est 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 bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et al., 2006**).

100  $\mu\text{L}$  d'échantillon dilué ont été ajoutés à 0,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 4 min, 1,25 mL du carbonate de sodium (20%). Après 2 h d'Incubation à température ambiante, l'absorbance à 760 nm a été mesuré. Les résultats ont été Exprimé en équivalent acide gallique (GAE) / g poids sec de matériel végétal.

### II.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits ; 1 mL de chaque extrait (avec dilution convenable) est ajouté à 1 mL d'une solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Après 10 min de réaction, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la Rutine (0- 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (**Bahorun et al., 1996**).

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent de rutine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait).

### II.3.3. Détermination de la teneur en anthocyanes

Le contenu en anthocyanes a été déterminé par méthode pH qui utilise deux systèmes tampon: tampon du chlorure de potassium (pH 1,0 ; 0,025 M) et tampon d'acétate du sodium (pH 4,5, 0,4 M). Les extraits ont été mélangés avec 3,6 mL de tampons correspondants et les absorbances ont été mesurés à 510 et 700 nm avec un coefficient d'extinction moléculaire de 29600. Les résultats ont été exprimés comme mg de cyanidin équivalents de 3 glucosides par g MS (mg EGC/g MS) (**Elfalleh et al., 2011**).

La valeur des absorbances des deux échantillons est calculée comme suit:

$$A = [(A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.5}]$$

La teneur en anthocyanines est calculée comme suit :

$$TA = \frac{A \times PM \times DF}{\epsilon \times 1} \times 1000$$

Où,

**TA** : teneur en anthocyanines (mg d'équivalent cyanidine-3-glucoside /g MS).

**PM** : poids moléculaire de cyanidine-3-glucoside (g/mol).

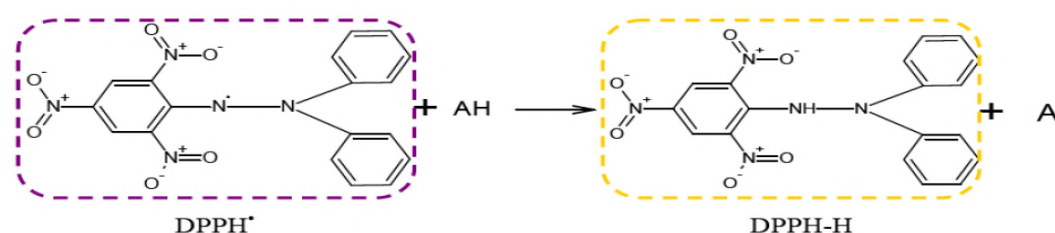
**DF**: facteur de dilution.

**$\epsilon$** :absorption molaire.

## II.4. Evaluation de l'activité antioxydante

### II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le test au diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH)

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH<sup>•</sup>), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH<sup>•</sup> est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno., 2002). La réaction peut se résumer comme suit (Figure 5) :



**Figure 5:** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH<sup>•</sup> et un antioxydant (AH) (Sanchez-Moreno., 2002).

Un volume de 1 mL de chaque extrait (avec dilution convenable) est incubé (30 min) avec 1 mL d'une solution méthanolique de DPPH (0,1 mM). Les absorbances sont mesurées à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle} \times 100$$

### II.4.2. Evaluation de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate

Le test du pouvoir réducteur du phosphomolybdate est un essai direct utilisé principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la réduction des molybdates en molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par l'UV à une longueur d'onde de 695 nm (Prieto et al., 1999).

Le test phosphomolybdate (PPM) a été réalisé selon la méthode décrite par Prieto et al. (1999) qui consiste à introduire dans un tube 0,1 mL de l'extrait de la plante mélangé à 1 mL d'un réactif composé de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,6 M), de Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Le tube a été ensuite bien fermé puis incubé à 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 695 nm.

## **II.5. Etude statistique**

Une étude statistique des résultats obtenus est effectuée dans le but la mise en évidence des différences significatives entre les résultats de chaque échantillon à l'aide du logiciel STATISTICA (comparaison post Hoc, test LSD). Pour l'analyse de la variance a un seul critère de classification (ANOVA), dont le degré de signification des données est pris à la probabilité de  $P < 0,05$ .

*Partie III*

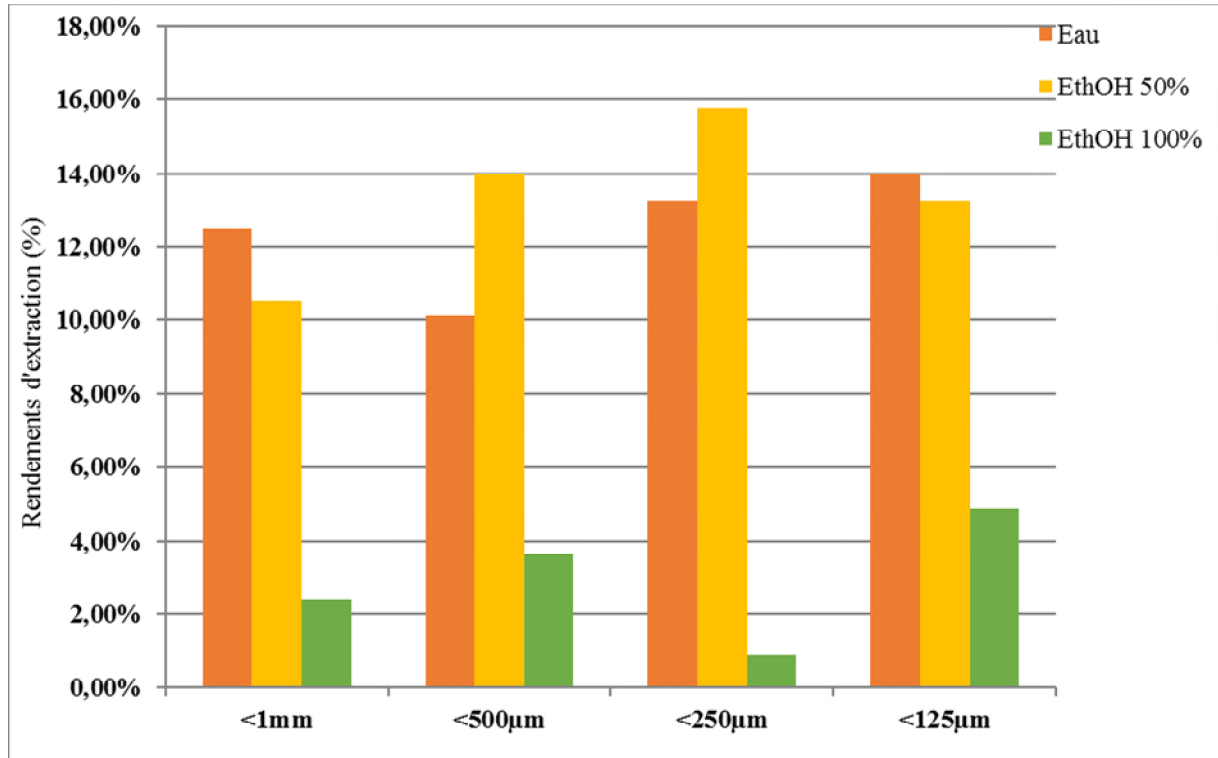
*Résultats*

*Et*

*Discussion*

### III.1. Rendement d'extraction

Les résultats de rendement d'extraction en utilisant l'eau, l'éthanol 50 et 100% comme solvants et différentes granulométries (<1mm, <500 $\mu$ m, <250 $\mu$ m, <125 $\mu$ m) de la poudre des fleurs de *Ficus indica* sont présentés dans la figure suivante :



**Figure 6.** Effet de la granulométrie et de solvants sur le rendement d'extraction.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que le rendement le plus élevé est attribué à l'extrait éthanolique 50% et cela pour les échantillons provenant des quatre granulométries (<1mm, <500 $\mu$ m, <250 $\mu$ m, <125 $\mu$ m). Cependant, l'éthanol pur a révélé les rendements les plus faibles. Le mélange éthanol/eau (1/1 ; v/v) semble être le plus efficace et le plus sélectif pour extraire les composés phénoliques des fleurs de cactus. Cela est probablement dû à l'affinité des composés phénoliques présents dans les échantillons étudiés aux solvants polaires. Selon **Wang et Weller (2006)**, l'eau et éthanol sont les solvants les plus couramment utilisés pour obtention d'extraits phénolique possédant un pouvoir antioxydant. L'eau et le solvant à faible % en éthanol peuvent accéder aux cellules, mais un fort pourcentage d'éthanol peut provoquer la dénaturation des protéines ce qui empêché la dissolution des polyphénole lors de l'extraction.

L'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement en composés phénoliques glycosylés et des phénols avec un degré de polymérisation plus élevé. D'autre

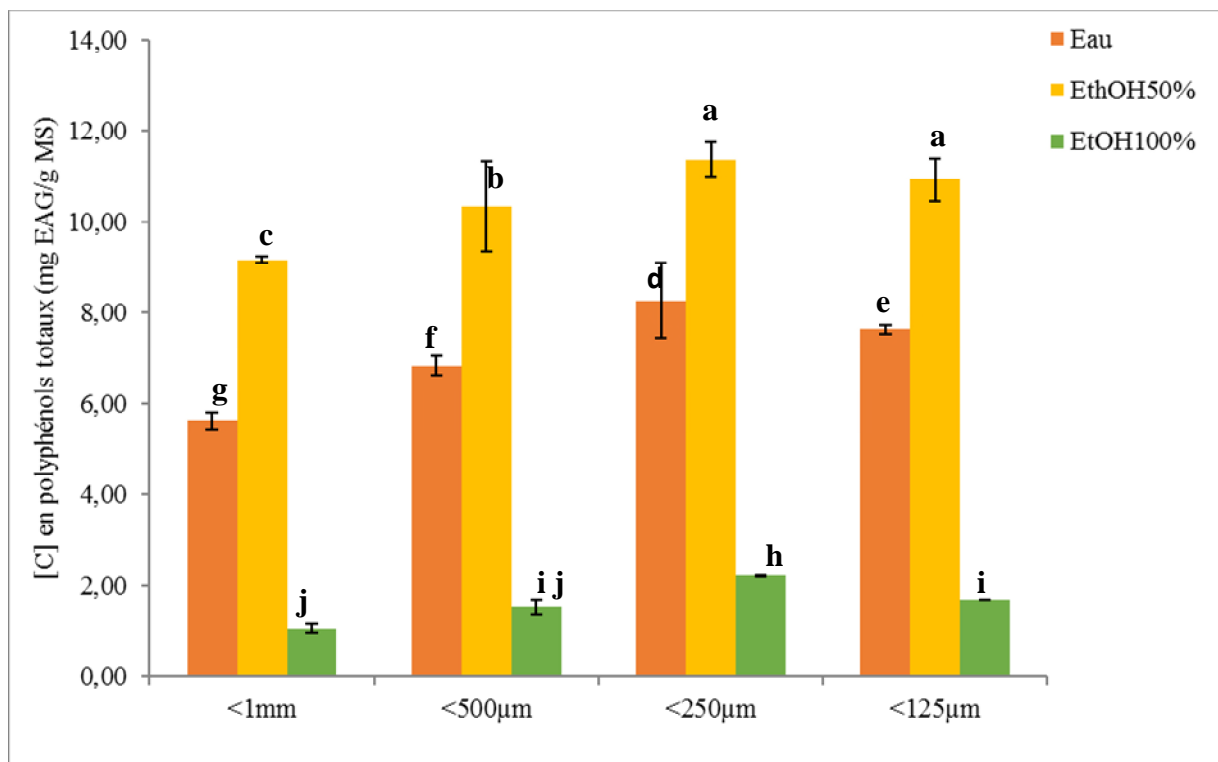


part, l'augmentation de l'eau dans le système de solvant d'extraction (0-50 % éthanol) fait extraire en quantité importante les composés non phénoliques comme les glucides et les protéines, susceptibles de polymériser avec les composés phénoliques ce qui conduit à la formation des complexes colloïdaux qui ne sont pas détectés par le test utilisé ( **Poncet-Legend et al., 2003** ). Le même raisonnement peut être établi pour l'extrait aqueux, mais l'absence de la portion organique dans le mélange extractif a vraisemblablement influé sur la valeur du rendement.

Concernant l'effet de la taille des particules sur le rendement d'extraction, nous constatons qu'elle n'a pas engendré un effet remarquable.

### III.2. Estimation quantitative des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux, des extraits de fleurs d'*Opuntia ficus indica* a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Des mesures de la densité optique pour chaque extrait ont été réalisées à 760 nm. Les quantités de polyphénols correspondantes ont été rapportées en équivalent d'acide gallique. Les résultats sont montrés dans la figure suivant :



**Figure 7.** Effet de la granulométrie et de solvants sur les teneurs en polyphénols totaux des extraits des fleurs de cactus.

Comme le montre l'histogramme (Figure7), la teneur en polyphénols totaux dans les extraits avec les différents solvants utilisés diffère d'un extrait à un autre. Les extraits éthanoliques 50% préparés avec les poudres dont la taille des particules <125 et 250 µm, ont présenté les plus grandes teneurs en composés phénoliques, sans différence significative à  $P \leq 0,05$ , qui sont respectivement de 11,38 et 10,93 mg EAG/g MS. Les extraits aqueux préparés avec les différentes granulométries utilisés (<250µm, <125µm, <500µm, <1mm) ont donné des teneurs moyennes en composés phénoliques qui sont respectivement de 8,28 ; 7,63 ; 6,83 et 5,63 mg EAG/g MS. Cependant, et les teneurs les plus faibles ont été attribuées aux extraits éthanolique 100% pour les quatre granulométries (<250µm, <125µm, <500µm, <1 mm) dont les teneurs sont respectivement de 2,22 ; 1,70 ; 1,54 ; 1,07 mg EAG/g MS.

Selon **Rabhi (2015)** le contenu en polyphénols totaux de différentes fleurs de cultivars de **cactus** diminue d'une manière significative suivant l'ordre suivant : Gialla> Bianca> Rossa dont les teneurs sont respectivement de 6,96 >4,93 >4,85 mg équivalent EAG/g MS. Ces résultats indiquent que la distribution des métabolites secondaires peut fluctuer entre différents cultivars végétaux. En variante, il a été révélé que le contenu phénolique variait considérablement parmi les cultivars de cactus. Le contenu en polyphénols totaux varie de 4,85 mg d'EAG/g MS pour les fleurs de Rossa jusqu'à 6,96 mg EAG / g MS pour les fleurs de cultivar Gialla. Ces résultats sont inférieurs à nos résultats et cela est probablement lié à la méthode d'extraction et au solvant (méthanol) utilisés par cet auteur. Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée affectent tous le contenu total en phénols (**Lee et al., 2003**).

En outre, la quantité des composés phénoliques des extraits de plantes dépend essentiellement : de leur origine (**Ebrahimzadeh et al., 2008**), la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (**Park et Cha, 2003**) et la durée de conservation. Le solvant d'extraction permet d'extraire des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les pigmentss qui peuvent interférer lors de dosage des composés phénolique (**Djeridane et al. 2007**). Ainsi, la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains sucres et protéines ce

qui mène à avoir un taux phénolique apparent élevé (Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006).

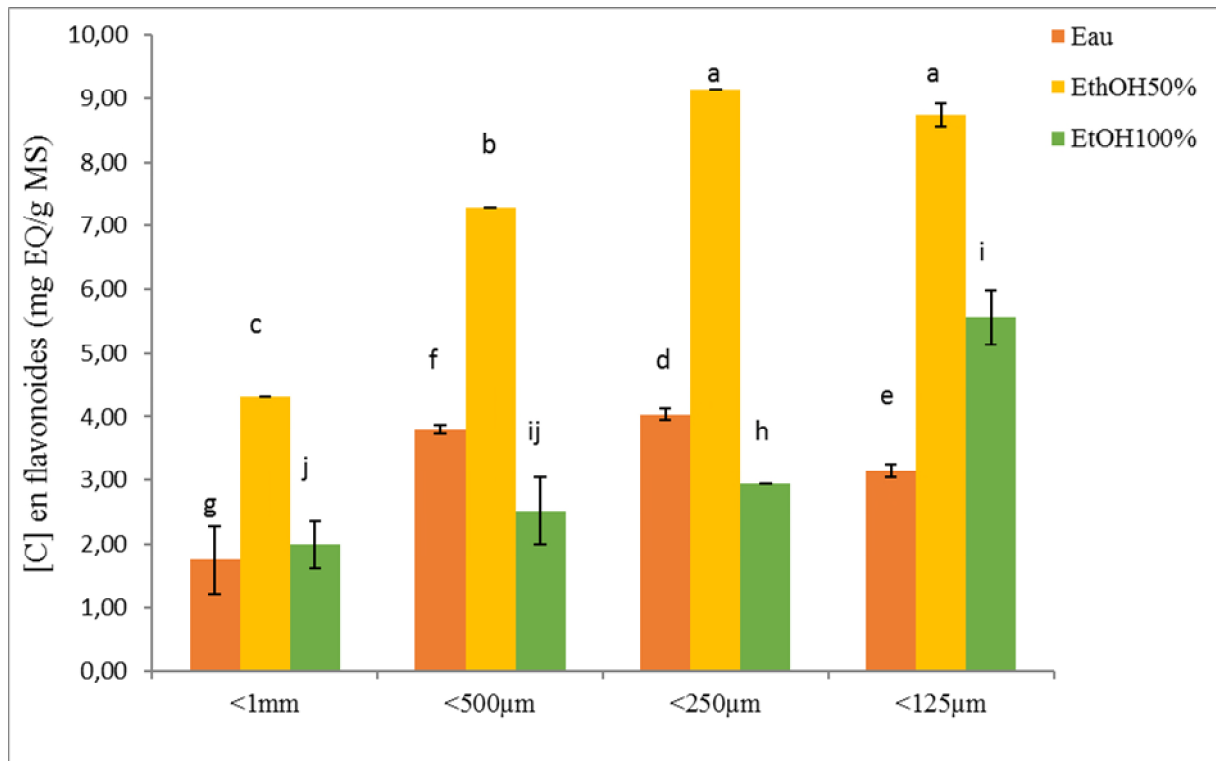
Selon Allai et al. (2016) le contenu phénolique d'extrait éthanolique des raquettes d'*Opuntia ficus indica* est dans l'ordre de  $111,2 \pm 5,8$  mg d'acide gallique dans 1 mg de lyophilisat d'extrait. Tandis que, l'extrait acétonique a fourni une teneur de  $73,1 \pm 2,1$  mg d'acide gallique. Ces résultats sont bien supérieurs à ceux trouvés dans ce présent travail vu qu'il a utilisé une partie différente de la plante étudié. En outre, Halmi (2015) ont étudié six extraits des raquettes d'*Opuntia ficus indica* et ils ont noté que la teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait d'acétate d'éthyle ( $318 \pm 0,57$  mg GAE/g d'extrait) suivi par l'extrait butanolique ( $234,96 \pm 0,78$  mg GAE/g d'extrait), puis viennent les extraits méthanolique, aqueux, éther de pétrole et chloroformique avec des teneurs de  $46 \pm 0,61$  ;  $35,2 \pm 0,64$  ;  $20,1 \pm 0,32$  ; et  $15,4 \pm 0,83$  mg GAE/g d'extrait respectivement. Ces résultats sont bien supérieurs à nos résultats et cela peut être justifié par la nature des solvants utilisés par ces auteurs.

D'après une étude réalisée par Abou-Ellella et al. (2014) sur le fruit d'*Opuntia ficus indica*, une teneur élevée en polyphénols totaux est obtenue ( $1501,7 \pm 2$  mg EAG /100 g) en utilisant l'éthanol 80% comme solvant d'extraction. Par contre, l'extrait aqueux a enregistré une valeur de  $612,1 \pm 1,9$  mg EAG/100g.

Selon Benayada et al. (2014) qui a réalisé son étude sur l'extraction des composés phénoliques par deux méthodes (macération et extraction accélérée des solvants (ASE)) sur les fleurs de cactus, les extraits acétoniques ont donné les plus grandes quantités en composés phénoliques totaux (2,85 et 3,18 mg EAG / g MS pour les deux techniques respectivement) par rapport aux extraits méthanolique (2,34 et 2,40 mg EAG/g MS).

### III.3. Dosage des flavonoïdes

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des fleurs de cactus exprimés en mg d'équivalent de Quercétine (EQ/g) en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions sont représentés dans la figure suivant :



**Figure 8.** Effet de la granulométrie et de solvants sur les teneurs en flavonoïdes des extraits des fleurs de cactus.

Comme le montre l'histogramme, la teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits avec les différents solvants et utilisant différentes granulométries diffère d'un extrait à un autre. Les extraits éthanolique 50% préparés avec les poudres dont la taille des particules sont de <250µm et <125 µm ont présenté les plus grandes teneurs en flavonoïdes sans différence significative à  $P \leq 0,05$  qui sont respectivement de 9,13 et 8,74 EQ/g MS. Ils sont suivis par les extraits préparés avec la poudre dont la taille est inférieure à 500 µm et 1 mm qui donnent des quantités en flavonoïdes les plus faibles qui sont de 4,30 mg EQ/g MS. Par contre les extraits éthanolique et aqueux ont donné des teneurs faibles notamment ceux préparés avec les poudres dont la taille des particules < 500 µm et 1mm.

En comparant les teneurs en flavonoïdes à celles des composés phénoliques dans tous les extraits, nous remarquons qu'elles sont toutes plus faibles, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (acides phénoliques, tanins...).

Selon **Allai et al. (2016)**, la teneur en flavonoïdes d'extrait éthanolique des raquettes d'*Opuntia ficus indica* est de l'ordre de  $27,0 \pm 4,0$  mg équivalent rutine, par contre dans 1 mg de l'extrait acétonique lyophilisé de cladode la teneur est de  $22 \pm 2,0$  µg équivalent rutine.

**Rabehi (2015)** a indiqué dans son étude que la teneur en flavonoïdes des fleurs d'*Opuntia ficus indica* a été influencée par le cultivar. Le contenu total en flavonoïdes varie de 1,64 mg EQ/g de poids sec pour le cultivar Bianca à 4,28 mg EQ/g de poids sec pour le cultivar Gialla. Tandis que le cultivar Rossa a révélé une teneur entre les deux qui est de 2,48 mg EQ/g de poids sec.

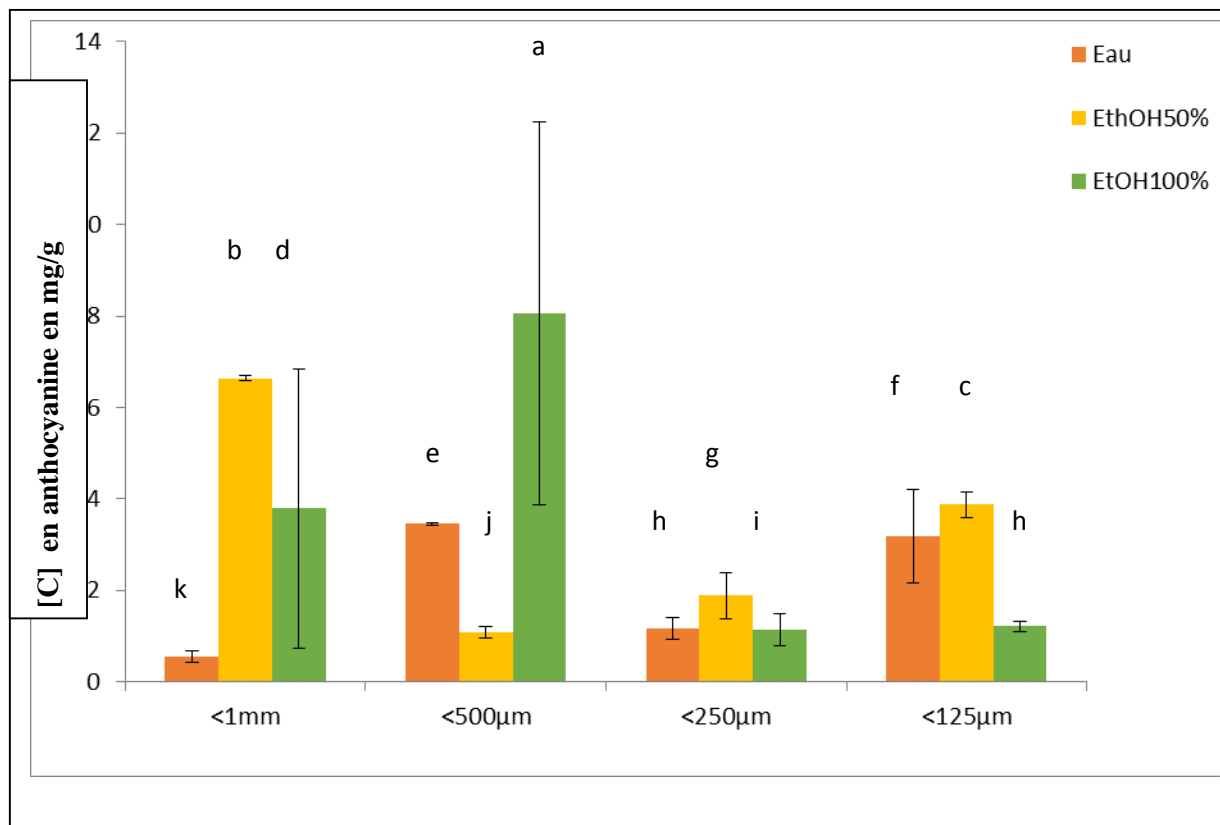
Les résultats du dosage des flavonoïdes trouvés par **Halmi (2015)** révèlent que l'extrait méthanolique contient  $11,16 \pm 0,109$  mg ER/g d'extrait. Les extraits éther de pétrole, chloroforme et aqueux ont donné des teneurs de  $7,116 \pm 0,094$  ;  $4,93 \pm 0,224$  et  $10,81 \pm 0,174$  mg ER/g d'extrait respectivement. Les deux fractions butanolique et d'acétate d'éthyle sont les plus riches avec des teneurs  $24 \pm 0,367$  et  $12,4 \pm 0,143$  mg ER/g d'extrait respectivement. Ces dissimilitudes sont probablement liées à la partie de la plante étudiée, à la nature de l'espèce et des solvants utilisés. Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

L'étude statistique montre l'existence d'une bonne corrélation entre les teneurs en polyphénol et les teneurs en flavonoïdes avec un coefficient de corrélation ( $r$ ) de l'ordre de **0,71 (Annexe IV)**

Nous remarquons aussi que les extraits préparées avec les granulométries  $<125$  et  $<250\mu\text{m}$  donnent des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes. Cela est prouvé par l'étude menée par **Gbohaïda et al. (2015)** qui il ont noté que le meilleur taux d'extraction et les meilleures teneurs en polyphénols sont obtenus avec la granulométrie la plus faible (300 µm). Cependant, la granulométrie de 600 µm a révélé des rendements et des teneurs plus faibles. Il ressort de ce qui précède qu'avec les fines particules, les composés chimiques sont plus facilement transférés de la matière végétale vers le solvant d'extraction. Cela s'expliquerait par le fait que le solvant diffuse plus facilement à l'intérieur des petites particules pour extraire les molécules de polyphénols.

### III.4. Dosages des anthocyanines

Les anthocyanes ou les pigments des fleurs ou de fruits sont déterminés selon la méthode de pH différentielle basant sur le fait que la structure des anthocyanes subit une transformation réversible lors d'un changement de pH et qui se manifeste par des spectres d'absorption différente. Les teneurs en anthocyanines des fleurs de cactus obtenues exprimées en mg d'équivalent cyanidin-3-glucosid par 100 g de l'échantillon, sont présentés dans la figure suivante :



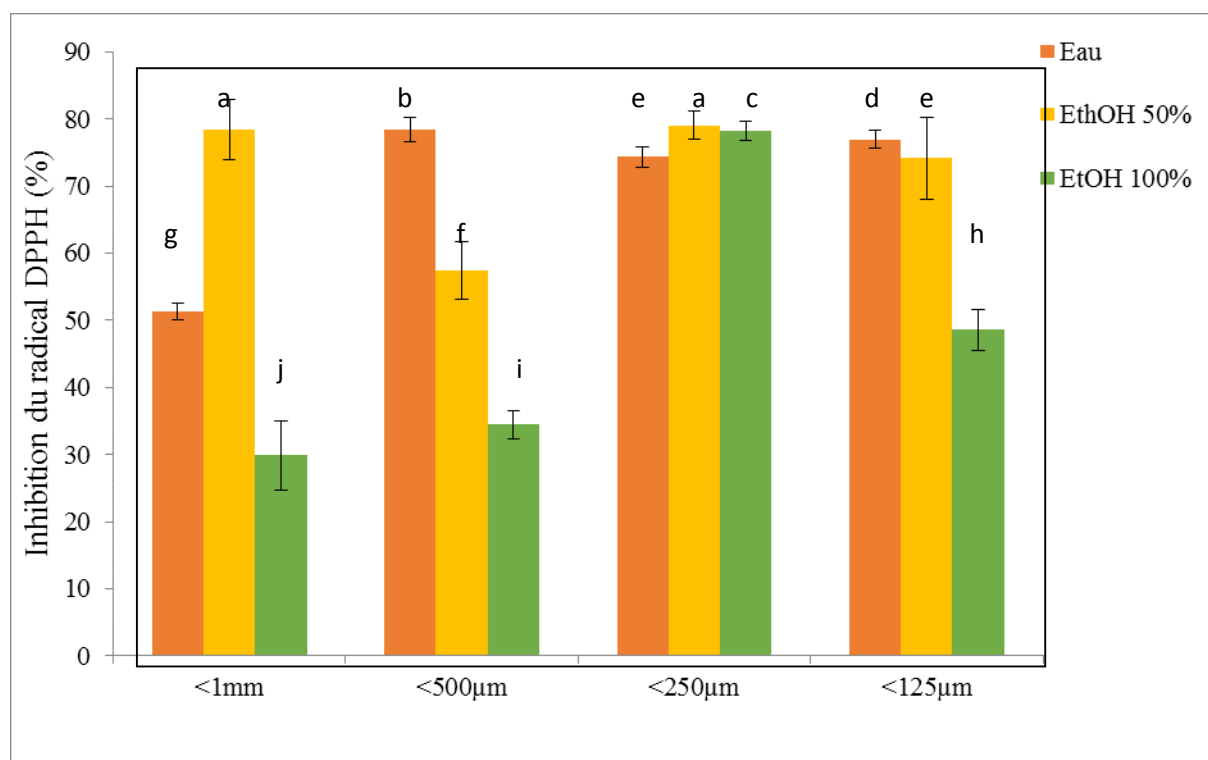
**Figure 9:** Effet de la granulométrie et de solvants sur les teneurs en anthocyanines des extraits des fleurs de cactus.

D'après nos résultats présentés dans l'histogramme l'extrait éthanolique préparé avec la poudre dont la granulométrie est  $<500 \mu\text{m}$  a présenté une meilleure teneur en anthocyanes (**0,65 mg/g**) suivi par l'extrait éthanolique 50% préparé avec la granulométrie  $< 1 \text{ mm}$  (**0,38 mg/g**) avec une différence significative à  $P \leq 0,05$ . Les extraits aqueux viennent en dernière position pour presque toutes les granulométries utilisées.

Nos résultats concordent bien avec les recherches menées par **Rabehi (2015)** qui a trouvé que tous les cultivars d'*Opuntia ficus indica* contiennent des anthocyanine. Cet auteur a noté que la teneur en anthocyanines variait considérablement parmi les variétés de cactus. La concentration totale en anthocyanes était plus élevée chez le cultivar Gialla (0,30 mg/100 g de poids frais) que chez les cultivars Rossa (0,24 mg / 100 g PF) et Bianca (0,16 mg / 100 g PF).

### III.5. Evaluation de l'activité antioxydant (test du DPPH)

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes de la figure 10, qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de différents extraits de la plante.



**Figure 10.** Effet de la granulométrie et de solvants sur l'inhibition du radical DPPH<sup>\*</sup> par mes extraits des fleurs de cactus.

D'après l'histogramme les extraits éthanolique à 50% donnent une meilleure activité anti- radicalaire (**78,41%**) pour les granulométries < à 1 mm, 125 et 250 µm sans différences significatives à  $P < 0,05$  suivis par les extraits aqueux (**78,47%**) préparé avec la poudre dont la

taille des particules est < à 125, 250 et 500  $\mu\text{m}$ . Les extraits éthanolique 100% ont révélé l'activité la plus faible.

Selon **Rabehi (2015)**, l'extrait méthanolique de différents cultivars de *Ficus carica indica* inhibent significativement l'activité des radicaux DPPH $\cdot$ . Les cultivars Rossa, Giolla et Bianca ont montré une activité élevée avec des pourcentages d'inhibition respectivement de 55,17, 54,73 et 52,80 à (1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Néanmoins, cette activité diminue lorsque la concentration d'extrait augmente (100 à 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Dans l'ensemble, le temps de maturation avait sensiblement et différemment affecté l'activité d'inhibition de radical DPPH de la fleur d'*Opuntia ficus indica*.

Les polyphénols contenus dans les extraits d'*O. f. indica* sont probablement responsables de leurs l'activité antioxydante. Cela est en accord avec les travaux menés sur les extraits de *S. montana*, espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydante et antimicrobienne (**Ćetković et al., 2007**). En outre, plusieurs études ont montré que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (**Mariod et al., 2009 ; Locatelli et al., 2010**). Ceci mène à suggérer que l'effet antioxydant de différents extraits de notre échantillon peut être dû à une synergie entre les polyphénols et d'autres composants.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH $\cdot$  des extraits méthanolique des fleurs d'*Opuntia ficus indica* augmente d'une manière significative (de 13,14 à 95%) avec l'augmentation de la concentration de l'extrait (de 10 à 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (**Saidi et al., 2016**). Les pourcentages d'inhibition trouvés dans ce présent travail en utilisant la concentration de 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sont comparables à ces résultats.

Selon **Abou-Ellella et al. (2014)** l'éthanol/eau (80:20 v/v) donne une meilleurs activité antioxydante pour le fruit de cactus (80,8 ; 90,80 ; 91,7 et 90,6%) à différentes concentrations respectivement (20, 40, 60, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

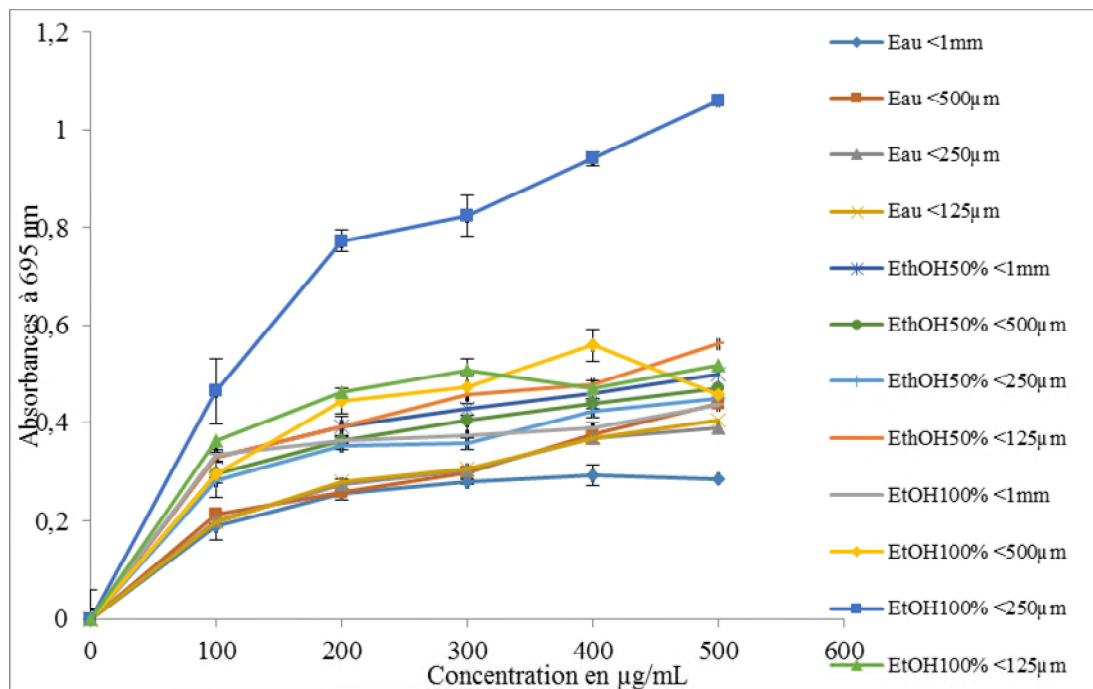
L'étude statistique montre qu'il ya une bonne corrélation entre l'activité anti-radicalaire au DPPH avec les teneurs en polyphénols totaux est observée avec un coefficient de corrélation (r) de l'ordre (**0,64**). Tandis qu'une moyenne corrélation est retrouvée avec les



teneurs en flavonoïde avec un coefficient de corrélation ( $r$ ) de l'ordre (**0,39**) et une corrélation négative avec les teneurs en anthocyanines de l'ordre de (**-0.41**) (**Annexe IV**)

### III.6. Evaluation de l'activité antioxydant par le test au phosphomolybdate

L'analyse de Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la possibilité et la puissance des antioxydants non enzymatique, la comparaison entre les différentes activités antioxydantes de nos extraits de fleurs d'*Opuntia ficus indica* sont indiqués dans la figure suivante :



**Figure 11.** Effet de la granulométrie et de solvants sur la réduction de molybdate par mes extraits des fleurs de cactus.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'extrait éthanolique préparé avec la poudre dont la taille des particules est <math><250\ \mu m</math> a montré nettement une meilleure capacité à réduire le Mo (VI) en Mo (V) avec une différence significative à  $P < 0,05$  (**Annexe VI**) suivi par une activité moyenne des extraits préparés avec d'autres granulométries et solvants.

L'étude menée par **Rabehi et al. (2015)** a révélé que l'activité antioxydante totale de l'extrait de fleurs de *Ficus carica indica* cultivar Gialla était 1,81 fois plus élevée que celle de l'extrait de cultivar Bianca et 3,35 fois plus élevée que celle de l'extrait de cultivar Rossa. Cette forte activité antioxydante des fleurs Gialla (13,36 mg GAE / g poids sec) pourrait être attribuée à la présence de composés phytochimiques tels que les composés phénoliques.

D'après **Halmi (2015)** les extraits éther de pétrole et les extrait chloroforme de raquettes d'*Opuntia ficus indica*, qui sont riches en matière grasse possèdent une activité antioxydante plus importante ( $28,4 \pm 0,342$  ;  $15 \pm 0,624$  mg/100g de MS) que les autres extraits qui sont riches en polyphénols (extrait méthanol , extrait butanol , extrait aqueux ,extrait d'acétate d'éthyle) et qui montrent des activités proches de  $5,4 \pm 0,254$  ;  $5,1 \pm 0,734$  ;  $6,2 \pm 0,347$  et  $5,89 \pm 0,476$  mg/100g de MS respectivement.

Ces résultats sont tout à fait contraires aux résultats obtenus par le test DPPH. Cette contradiction est due certainement aux types des tests utilisés et le mécanisme des réactions mises en jeux. Dans le test au DPPH les extraits riches en polyphénols sont les plus actifs suivit par les autres extraits. Par contre dans le test au phosphomolybdate, les extraits riches en matière grasse possèdent des pouvoirs antioxydants très importants plus que les fractions phénoliques (**Halmi et al., 2015**). Par conséquent, nous pouvons dire que les deux tests antioxydants adoptés dans ce présent travail sont complémentaire de fait que l'un (DPPH) est spécifique des composés polaires alors que l'autre (test au phosphomolybdate) de composés apolaires.

*Conclusion*  
*et*  
*Perspective*

## ***Conclusion générale***

---

Ces dernières années, de nombreux chercheurs sont intéressés aux composés biologiquement actifs isolés d'extraits de plantes, qui sont considéré comme de véritables sources naturelles de substances dont il faut tirer le maximum de profit.

Notre travail est consacré aux dosages des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, et anthocyanines) contenus dans différents extraits obtenus avec l'eau, l'éthanol pur, l'éthanol 50% en utilisant de particules de diverses tailles (<125, 250, 500 et 1000  $\mu\text{m}$ ) de fleurs de *ficus indica*. L'activité antioxydante est également étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphényl -2-picryl-hydrasyl (DPPH<sup>\*</sup>), et la méthode au phosphomolybdate.

La détermination des rendements en extraits a montré une rentabilité en extraits les plus polaires (hydroéthanolique et aqueux) pour les différentes granulométries de la poudre de fleurs allant de 10,13 à 15,75%, alors qu'elle s'affaiblit en passant aux extraits les moins apolaires (éthanolique à 100%). L'estimation quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des anthocyanines dans les extraits analysés a montré que les extraits éthanolique à 50% et aqueux sont les plus riches en ces métabolites, tandis que l'extrait éthanolique pur est considéré comme le plus pauvre.

Concernant l'activité antioxydante, l'extrait éthanolique à 50% préparé avec la granulométrie < à 1 mm donne une meilleure activité anti-radicalaire (78,41%) suivi par l'extrait éthanolique préparé avec la granulométrie < à 250  $\mu\text{m}$  sans différence significative à  $P \leq 0,05$  (78,19%), puis vient l'extrait aqueux préparé avec la granulométrie < à 125  $\mu\text{m}$  (76,94%). Dans le test au phosphomolybdate ; l'extrait éthanolique préparé avec la poudre dont la taille des particules est < 250  $\mu\text{m}$  a montré nettement une meilleure capacité à réduire le Mo (VI) en Mo (V) avec une différence significative à  $P < 0,05$  suivi par une activité moyenne des extraits préparés avec d'autres granulométries et solvants.

Pour une extraction efficace et optimale des fleurs de cactus en résumant les différentes étapes d'extraction menées sous différentes conditions, certaines conclusions s'imposent :

- ✓ Le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols des fleurs est l'éthanol 50% ;
- ✓ L'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement ;
- ✓ Les granulométries est plus petites (inférieures à 125 et à 250  $\mu\text{m}$ ) donnent généralement les meilleurs résultats, mais plus la taille des particules est élevée, plus la surface de contact diminue ce qui conduit à la diminution du taux des polyphénols.

## ***Conclusion générale***

---

Nos résultats suggèrent que les polyphénols, les flavonoïdes et les anthocyanes peuvent être de composés antioxydants importants dans la fleur d'*Opuntia ficus indica*, sur la base des résultats obtenus, qui peuvent jouer un rôle bénéfique pour la santé.

En perspectives, ça serait intéressant de :

- ✓ Etudier d'autres paramètres (temps, température, rapport solide /liquide) qui ont un effet sur l'extraction des composés phénoliques des fleurs de cactus ;
- ✓ Utiliser d'autres techniques d'extraction telles que la macération, extraction à la micro-onde ;
- ✓ Identifier les composés phénoliques présents dans les différents extraits ;

*Références  
bibliographique*

## Références bibliographiques

### A

**Allai, L., Karym, E. M., El Amiri, B., Nasser, B., Essamad, A., Terzioğlu, P., Ertas, A., Öztürk, M. (2017).** Evaluation of Antioxidant Activity and Phenolic Composition of *Opuntia ficus-indica* Cladodes Collected from Moroccan Settat Region Eurasian Journal of Analytical Chemistry ISSN: 1306-3057 2017, 12:105-117 DOI 10.12973.

**Ana B.K., Planinić M., Srećko T., Stela J., Mujić I., Mate B. et Darko V. 2011** Effect of Extraction Conditions on the Extract ability of Phenolic Compounds from Lyophilised Fig Fruits (*Ficus Carica*L.): 195-199.

**Aravodis E. 2005.** Antioxidant potential of African medicinal plants. African Journal of Biotechnology. : 128-133.

**Arba M. 2000.** Les Opuntias à fruits comestibles dans certaines régions du Maroc. Actes IIème journée National. Culture de cactus. El kelaa des Sraghna. Maroc : 8.

**Arba M. 2009.** Le cactus *Opuntia*, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. Symposium international agriculture durable en région méditerranéenne (AGDUMED). Rabat, Maroc : 215-223.

### B

**Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C. et Pinkas M. 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts From Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Journal of Arzneimittel-Forschung: 1086-1089.

**Benayada, Z., Martinez-Villaluengaa,C., Friasa, J., Gomez-Cordovesa, C. Es-safi, N. (2014).** Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction methods Industrial Crops and Products 62: 412–420.

**Budic-letoc, I., Lovric, T., Pezo, I., Klujuzuric, J.G. (2005).** Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety. Food Technology and Biotechnology, 43(1): 47-53.

### C

**Cacace, J.E. et Mazza, G. (2003).** Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. J. Food Eng, 59: 379–389.

Ćetković, G.S., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S.M., Tumbas, V.T., Markov S.L., Cetković, D.D. (2007). Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*. Pp1013-1027.

Chemat, F., Huma, Z., Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 813-835.

Clifford, M.N. (2000).-Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. *J.Sci.Food Agric*, 8 :1063-1072.

## D

Delattre, J. J., Beaudeau L., Bonnefont, D., Rousselot, L. (2005). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Editions médicales Internationales: 1- 108.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J. F., Stocker, P. (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol*: 801-809.

## E

Ebrahimzadeh, M. A., Pourmmorad, F. Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian cornsilk. *Turkish journal of biology*, 32: 43-49.

Elfalleh, W., Tlili N., Nasri N, Yahia Y, Hannachi H, Chaira N., Ying M., Ferchichi A. (2011). Antioxidant Capacities of Phenolic Compounds and Tocopherols from Tunisian Pomegranate (*Punicagranatum*) Fruits. *J. Food Sci*, 76:707-713.

Erdman, J., Balentine, D., Arab, L. Beecher G., Hollman, P., Keen, C.L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G., Burrows, J. (2007). Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop May 31-June 1, Washington, DC1-4. *Journal of Nutrition*, 137: 718-737.

## F

Faten, M. Abou-Elella., Rehab Farouk, M. Ali.(2014). Antioxidant and Anticancer Activities of Different Constituents Extracted from Egyptian Prickly Pear Cactus (*Opuntia Ficus-Indica*) Peel <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1009.1000158>



**Florent, D. (2011).** Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corsésar daigne: *Chamaemelummixtum*, *Anthemismaritima* et *Eryngiummaritimum*. Thèse de doctorat en Chimie. Université de corse-pascal paoli : 234.

**Fosting, S. (2004).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Maeruaangoensis* (Cappridaceae).Thèse de doctorat. Bamako:149.

## G

**Gardes-albertm., bonnefont-rousselot, d, abedinzadeh, z. d.jore. (2003).**Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique:91-96.

**Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis: 1220-1234.

**Guzman, U., Arias, S., Dávila, P., Reyes-Aguero, J.A., Aguirre, J.R., Valiente-Banuet A. (2006).** Reproductive biology of *Opuntia* : A review. Journal of Arid Environments. : 549-589.

## H

**Hadjkouider, B., Boutekrabt, A., Chaouch, F.Z. (2010).** La diversité de l'opuntia dans la zone d'el mesrane (djelfa) et perspectives d'amélioration. Séminaire International en Biologie Végétale et Ecologie thème biodiversité, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine, Algérie. Communication Orale.

**Halmi, S. (2015).** étude botanique et phytochimique approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*, en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Option Biotechnologies Végétales université des freres mentouri de constantine.

**Herzi, N. (2013).**Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de docteur. Université de toulouse.

**Hollman, P., Cassidy, A., Comte, B., Hatzold, T., Heinonen, M., Richling, E. (2010).** Antioxidant activity of polyphenols and cardiovascular health: application of the PASSCLAIM criteria. *Journal of Nutrition*, 29: 989-1009.

**Hu, S.G., Li, L., He, X.W. (2005).** Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*: 31-37.

## I

**Ignat, I., Volf, I., Popa, V. (2011).** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*.126: 1821-1835.

## J

**Jonas, A. Rosenblat, G., Krapf, D., Bitterman, W., Earon, G., Neeman, I.** Efficacy of cactus flowers miller treatment in benign prostatic hyperplasia due to inhibition of 5 $\alpha$  reductase activity, aromatase activity and lipid peroxidation.

## K

**Karym E. M, Youssef E. K., Asmaa, B. A., Pierre Andreoletti, Joseph Vamecq , M'Hammed Saïd El Kebbaj , Norbert Latruffe , Gérard Lizard ,Boubker Nasser., Mustapha Cherkaoui-Malki.(2014).**Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease *Molecules*2014, 19: 14879-14901.

**Koga, T., Meydani, M. (2001).** Effect of plasma metabolites of (+)-catechin and quercetin on monocyte adhesion to human aortic endothelial cells. *Journal of Clinical Nutrition*, 73 : 941-948.

## L

**Laignel, I. (1948).** Cactus et médecine éditions thiébaud.

**Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y. (2007).**Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry* 102: 771-776.

**Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J.D., Martelli, A., Stevigny, C., Arlorio M. (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Noccio la Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*. Pp1647-1655.

## M

**Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P. 2006.** Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. In Les polyphénols en agroalimentaire, p. Sarni-Manchado P., Cheynier V., Eds. Paris: Lavoisier, 398 : 1-28.

**Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727-747.

**Mancebo-campos, v., desamparadosalvador, m., fregapane, g. (2014).** Antioxidant capacity of individual and combined virgin olive oil min or compounds evaluated temperature (25 and 40 °C) as compared to accelerated and antiradical assays. *Food Chemistry*, 150, 374–381.

**McCall, M.R., Frei, B. (1999).** Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radical Biology and Medicine*:1034-1053.

**M'HIRI, N. (2015).** Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi sanguine » et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone Université de Lorraine.

**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 arvensis*) seedcake. *Food Chemistry*. P: 306-312.

**MazzaG-andMiniati, E. (1993).** « Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains » Boca raton. CRC press: 362.

## N

**Nacz, M., Shahidi, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 41, 1523–1542.

**Nathalie Boizot, Jean-Paul Charpentier .2006.**Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

**Nerd, A., Karady, A., Mizrahi, Y. (1991).** Out-of-season prickly pear: fruit characteristics and effect of fertilization and short drought periods on productivity. *Horticultural science*, 26: 527-529.

## P

**Park, H. J. et Cha, H. C. (2003).** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biologicalsociety*, 7 : 327-330.

**Penchev, P., Angelov, G., Condoret, J.S. (2010).**»Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.)," *Revue de Génie Industriel*, 5 : 115-123

**Peynet, J., Beaudoux, J., Legrand, A. (2005).** Stress oxydant et athérosclérose. In: **Delattre, J., Beaudoux J.L., Bonnefont- Rousselot D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques : 45-86.

**Poncet-Legrand, C., Cartalade, D., Putaux, J.L., Cheynier, V., Vernhet, A. (2003).** Flavan-3-ol Aggregation in Model Ethanolic Solutions: Incidence of Polyphenol Structure, Concentration, Ethanol Content, and Ionic Strength. *Langmuir*, 19:10563–10572

**Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*: 337-341.

**Prior, r.L., Wu, X., Schaich, K. (2005).** Standardized methods for the determination of Antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem*, 53: 4290-4302.

## R

**Rabhi, A., Limam,F., Falleh, H., Ksouri, R., Abdelly, Ch.,Raies, A .(2015).***Opuntia ficus Indica* flower: A prominent source of phenolic compounds and unsaturated fatty acid : 2320-5407 *International Journal of Advanced Research* , 3, Issue 4: 41-55

**Rodriguez Vaquero, M.J., Alberto, M.R., Manca de Nadra, M.C. 2007.**Antibacterialeffect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18: 93–101.

## S

**Saidi, N., Elmsellem, H., Ramdani, M., Yousfi, F., Rmili, R., Azzaoui, K., Aouniti, A., Chahboun, N. (2016).**A Moroccan *Opuntia Ficus Indica* methanolic flower s extract as an eco-friendly antioxidant and anti-corrosion for milds teelin 1 M HCl.

**Sánchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int*: 121-137.

**Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins.*Phytochemistry*, 12: 3875–3883.

**Scheinvar, L. (1995).** Taxonomy of utilized *Opuntia*. In Barbera, G., P. Inglese, and E. Pimienta -Barrios (eds.). *Agroecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO International technical cooperation network on cactus pear132: 20-27.

**SudzukiHills F. 1995.**Anatomy and morphology. in: G.Barbera, P. Inglese and E. Pimienta-Barios (eds) *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO Plant production and protection. Paper, 132:28-35.

**Spigno, G., Tramelli, L., Faveri, D. M. (2007).**Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.

## V

**Valente, L.M.M., da Paixão, D., do Nascimento, A.C., dos Santos, P.F.P., Scheinvar, L.A., Moura, M.R.L., Tinoco, L.W., Gomes, L.N.F., da Silva, J.F.M. (2010).** Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem*, 123:1127–1131.

**Valko, M., Rhodes, C.J.b., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interaction*: 1-40.

**Veberic, R., Colaric, M., Stampar, F. (2008).** Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (*Ficus carica* L.) in the northern Mediterranean region. *Food Chem*, 2008, 106: 153–157.

**Viot, S. (2004).** Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de l' $\alpha$ - $\beta$ -Cristalline. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1.

**Vuorela, S. (2005).** Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki. Helsinki:76.

## W

**Walali, L.D. (1997).** Le figuier de barbarie. Espèce fruitière d'intérêt secondaire cultivée au Maroc. *BLPNTT.MADRPM/DERD*, 35: 1-2.

**Wang, L., Weller, C.L. (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 300-312.

**Wright, J. S., Johnson, E. R., Dilabio, G. A. (2001).** Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J. Am. Chem. Soc*, 123:1173-1183.

## *Références électroniques*

<https://www.google.fr>

<https://www.wikipedia.fr>

***ANNEXE***

Annexe I : Matériel et réactifs

I.1. Matériel

-Bain marie (**Ultrasons H-D**)



-Bain marie (**Raypa**)



-Balance de précision (**Radwag**)



-Balance de précision (**Sartorius**)



## Annexes

<p>-Dessiccateur</p>	
<p>-Etuve ventilée (<b>Memmert</b>)</p>	
<p>-Micropipette (<b>Accumax</b>)</p>	
<p>-pHmètre (<b>Hanna pH 211</b>)</p>	
<p>-Plaque magnétique (<b>MultistirrerMagniticstirrer</b>)</p>	



-Spectrophotomètre (UV/visible- 9200)



-Tamiseur (**Retsch**)



## I.2. Réactifs

- Acide acétique (BIOCHEM)
- Chlorure de sodium (BIOCHEM)
- (AlCl<sub>3</sub>) Chlorure d'aluminium
- Eau distillée
- Ethanol 50%
- Ethanol pure
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Acide sulfurique ) BIOCHEM
- HCl (Chlorure d'hydrogen) BIOCHEM
- KCl (chlorure de potassium) BIOCHEM
- (Molybdate d'aluminium) (Sigma-aldrich)
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Mono-carbonate de sodium ) SIGMA-ALDRICH
- NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> (phosphate de sodium) BIOCHEM
- Réactif de Folin –Ciocalteu (Sigma-aldrich)
- DPPH (Diphényle-picryl-hydrazyle)

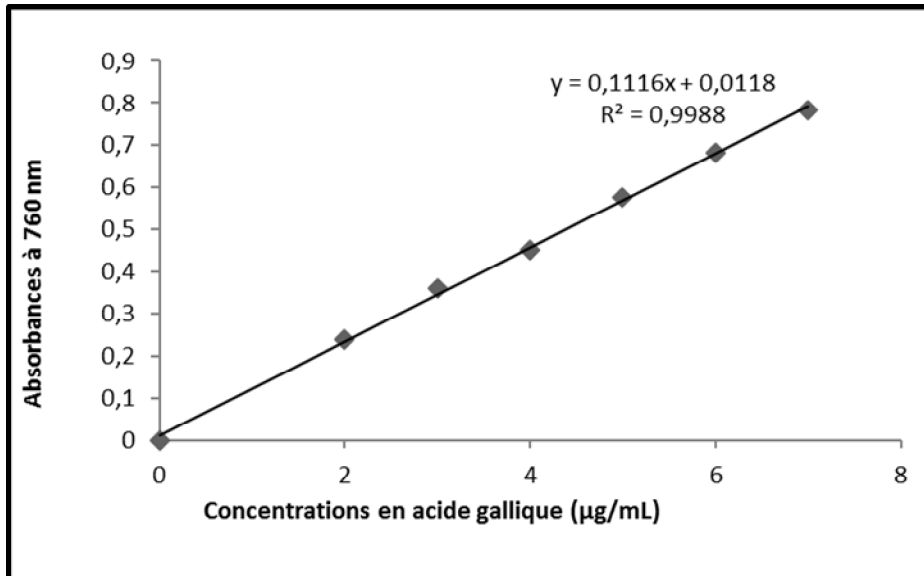
**Annexe II : Préparation de quelques solutions**

➤ **Les solutions tampon**

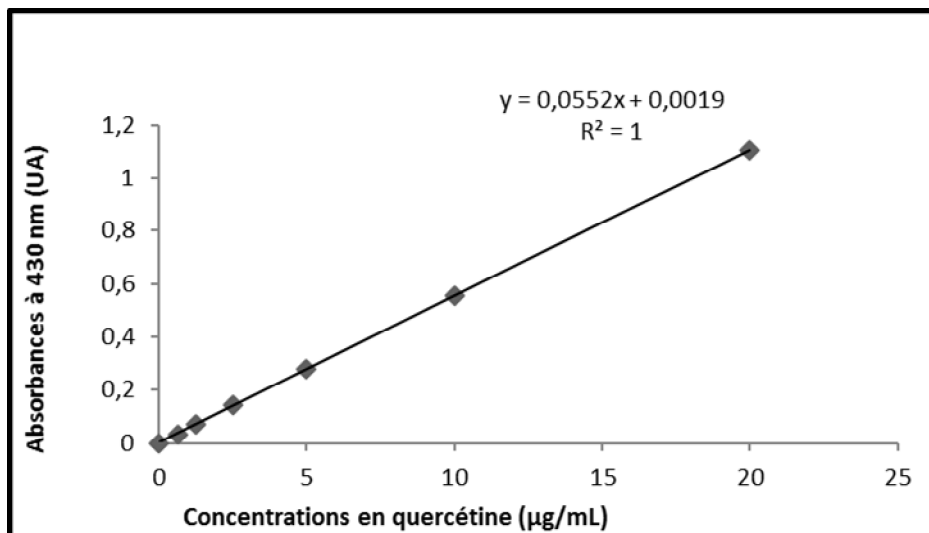
<b>Solution chlorure de potassium (pH=1)</b>	<b>Solution Acétate de sodium (pH=4,5)</b>
<p>-0,186 g de KCl (0,025 M) +100 mL d'eau distillée</p> <p>- Ajuster le pH à 1 avec HCl</p> <p>-HCL (8,6 mL + 100 mL d'eau distillée).</p>	<p>-3,2812 g d'acétate de sodium (0,4 M) + 100mL d'eau distillée</p> <p>-Ajuster le pH à 4,5 avec l'acide acétique (0,4 M)</p> <p>-A. Acétique (1,14 mL + 50 mL d'eau distillée).</p>

Annexe III : Courbes d'étalonnage

Annexe III.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux



Annexe III.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes



**Annexe IV : Corrélations entre les teneurs en polyphénols avec, teneurs en flavonoïdes, et les teneurs en anthocyanines, et d'inhibition du radical DPPH'**

Corrélations (new.sta)				
Suite... Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=36 (Suppression des observ. à VM)				
Variable	PPT	FLV	DPPH	ANTHOCYA
PPT	1,00	,71	,64	-,36
FLV	,71	1,00	,39	-,33
DPPH	,64	,39	1,00	-,41
ANTHOCYA	-,36	-,33	-,41	1,00

**Annexe V : Corrélations entre la réduction de molybdate avec, ces concentrations**

Suite... Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=36 (Suppression des observ. à VM)					
Variable	CO_1	CO_2	CO_3	CO_4	CO_5
CO_1	1,00	,89	,90	,84	,83
CO_2	,89	1,00	,99	,97	,95
CO_3	,90	,99	1,00	,98	,97
CO_4	,84	,97	,98	1,00	,99
CO_5	,83	,95	,97	,99	1,00

CO\_1 : la concentration 0,1

CO\_2 : la concentration 0,2

CO\_3 : la concentration 0,3

CO\_4 : la concentration 0,4

CO\_5 : la concentration 0,5

**Annexe VI : Résultats de test statistique pour la comparaison de l'activité antioxydant totale de différents extraits de fleurs de *Ficus carica indica***

<b>Solvants</b>	<b>Echantillons</b>	
<b>Ethanol 50%</b>	<1mm	c
	<500µm	d
	<250µm	c
	<125µm	c
<b>Ethanol 100%</b>	<1mm	c-b
	<500µm	d
	<250µm	a
	<125µm	b
<b>Eau distillée</b>	<1mm	f
	<500µm	e
	<250µm	e-f
	<125µm	e-f

## Résumé

Le but de ce travail est l'extraction des composés phénolique à partir des fleurs d'*Opuntia ficus indica* par la méthode ultra son et l'étude de l'activité antioxydante. Les conditions d'extraction de polyphénols étudiés sont; nature et concentration de solvant et la taille des particules. L'activité antioxydante est évaluée selon deux principes ; le premier est le pouvoir anti-radicalaire déterminé avec le test au DPPH et le second est le pouvoir réducteur par le test au phosphomolybdate. Les résultats de dosage des composés phénoliques ont montré que l'extrait éthanolique à 50% a enregistré avec une différence significative à  $P \leq 0,05$  les meilleurs résultats dont les teneurs varient de 9,18 à 11,38 mg EAG /g de MS pour les polyphénols totaux ; de 4,30 à 9,31 mg EQ /g de MS pour les flavonoïdes totaux. et celle des anthocyanines l'extrait éthanolique dont la granulométrie est  $< 500 \mu\text{m}$  a présenté une meilleure teneur en anthocyanes (0,65 mg/g) suivi par l'extrait éthanolique 50% préparé avec la granulométrie  $< 1 \text{ mm}$  (0,38 mg/g). Les extraits aqueux viennent en dernière position pour presque toutes les granulométries utilisées. Les résultats de L'activité antioxydante mesurée avec le test au DPPH montre que l'activité anti-radicalaire des extraits éthanolique à 50% donnent une meilleure activité (78,41%) pour la granulométrie  $< 1 \text{ mm}$ , suivi par l'extrait éthanolique ( $< 250 \mu\text{m}$ ) (78,19%) et concernant le test avec le phosphomolybdate ; l'extrait éthanolique dont la taille des particules est  $< 250 \mu\text{m}$  a montré notamment une meilleure capacité avec une différence significative à  $P < 0,05$ . Une bonne corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et les activités antioxydante est notée. Les résultats trouvés dans cette étude suggèrent que la fleur d'*Opuntia ficus indica* peut être considérée comme une source intéressante d'antioxydants pour les industries pharmaceutiques et agroalimentaires.

**Mot clé :** *Opuntia ficus indica*, Optimisation, Extraction, Composé phénoliques, Activités antioxydante

## Abstract

The aim of this work is the extraction of phenolic compounds from the flowers of *Opuntia ficus indica* by the ultra-son method and the study of antioxidant activity. The extraction conditions of the polyphenols studied are: Nature and concentration of solvent and particle size. The antioxidant activity is evaluated according to two principles: the first is the anti-free radical capacity determined with the DPPH test and the second is the reducing power by the phosphomolybdate test. The results of the phenolic compounds determination showed that the 50% ethanolic extract recorded with a significant difference at  $P \leq 0.05$  the best results whose contents ranged from 9.18 to 11.38 mg EAG / g MS For total polyphenols; 4.30 to 9.31 mg EQ / g DM for total flavonoids and anthocyanins the ethanolic extract with a particle size of  $< 500 \mu\text{m}$  showed a better content of anthocyanins (0.65 mg / g) followed By the 50% ethanolic extract prepared with the grain size  $< 1 \text{ mm}$  (0.38 mg/ g). The aqueous extracts come last for almost all the particle sizes used. The results of the antioxidant activity measured with DPPH show that the anti-radical activity of the 50% ethanolic extract give a better activity (78.41%) for the particle sizes  $< 1 \text{ mm}$ , followed by the ethanolic extract (78.19%,  $< 250 \mu\text{m}$ ) and relating to the test with phosphomolybdate; the ethanolic extract prepared with particle size  $< 250 \mu\text{m}$  showed clearly a better capacity with significant difference at  $P < 0.05$ . A good correlation between the flavonoid contents and the antioxidant activities is noted. The results found in this study suggest that the flower of *Opuntia ficus indica* can be considered an interesting source of antioxidants for the pharmaceutical and agro-food industries.

**Keywords:** *Opuntia ficus indica*, Optimization, Extraction, Phenolic Compounds, Antioxidant activity