

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA-BEJAIA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf :.....

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

Thème

**Extraction des Polyphénols des Raquettes du
Figuier de Barbarie de la Région de Souk-Ahras**

Présenté par :

OUDIRA Mounia

Soutenu le : 12 Septembre 2022

Devant le jury composé de :

Mme. GUEMGHAR-HADDADI H. MCA, Univ. Béjaïa
Mme. ADJEROUD-ABDELLATIF N. MCB, Univ. Béjaïa
Mme. TAZRART K. MCB, Univ. Béjaïa

Président
Encadreur
Examineur

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Je remercie avant tout Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Mes vifs remerciements vont d'abord à Mme ADJEROUD Nawel, pour tous ses conseils judicieux, et pour son orientation, je la remercie pour sa disponibilité et ses encouragements continuels.

Je remercie aussi Mme GUEMGHAR Hayette, d'avoir accepté de présider ce jury et d'examiner ce travail et Mme TAZRART Karima d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Mes sincères remerciements et considérations sont exprimés à toute L'équipe du laboratoire BBBS pour son aide et son encouragement

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers parents qui m'ont toujours soutenu et qui m'encouragent
pour continuer toujours vers l'avant.*

A mon mari qui n'as cessé de me soutenir et de m'encourager.

A mes enfants qu'Allah les préserve.

A toute ma famille.

A tous mes amis.

Mounia

Liste des abréviations

ABTS	2,2'-Azino-Bis(3-ethylbenzoThiazoline-6-Sulphonic acid)
ANOVA	Analysis Of Variance
Atm	Atmosphère
CAET	Capacité Anti-oxydante Equivalente au Trolox
Cm	Centimètre
COVID-19	Corona Virus Disease-19
CPT	Composés Phénoliques Totaux
EAG	Equivalent Acide Gallique
EAM	Extraction Assistée par Micro-ondes
EAS	Extraction Accélérée par solvant
EAU	Extraction Assistée par Ultrasons
EC	Extraction Conventiennelle
EES	Extraction par Eau Sous-critique
EFP	Extraction par Fluide sous Pression
EQ	Equivalent Quercétine
ET	Equivalent Trolox
FT	Flavonoïdes Totaux
GRAS	Generally Recognized as Safe
Ha	Hectare
K	Kelvin
Khz	Kilohertz
L.	<i>Linné</i> (classification de <i>Carl Von Linné</i>)
MHz	Mégahertz
Mill.	<i>Miller</i> (Classification de <i>Philip Miller</i>)
MS	Matière Sèche
nm	Nanomètre
OA	<i>Opuntia amyclae</i>
OFI	<i>Opuntia ficus indica</i>
OM	<i>Opuntia megacantha</i>
pH	Potentiel d'Hydrogène
PHBVL	Poly HydroxyButyrate-co-hydroxyValerate
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
rpm	rotation par minute
EFS	Extraction par Fluide Supercritique
spp.	Species (espèces)
HPLC	Ultra-High-Performance-Liquid-Chromatography
US	Ultrasons
UV	Ultra-violet

Liste de Figures

N° de la Figure	Légende	N° Page
Figure 1	<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill. : (A) Le cladode, (B) la fleur, (C) le fruit	3
Figure 2	Distribution de l' <i>Opuntia ficus-indica</i>	4
Figure 3	Structure de base des flavonoïdes	10
Figure 4	Extraction solide-liquide	12
Figure 5	Effet des paramètres ultrasoniques et leurs mécanismes d'action	13
Figure 6	Poudre de cladode d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	15
Figure 7	Schéma explicatif des extractions réalisées (extraction conventionnelle (EC) solide-liquide et Extraction assistée par Ultrasons (EAU))	16
Figure 8	Extraction conventionnelle des CPT sur plaque agitatrice	17
Figure 9	Dispositif de l'extraction assistée par Ultrasons des CPT	17
Figure 10	Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu	18
Figure 11	Structure de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), forme réduit ABTS, forme radical cation ABTS•+	19
Figure 12	Effet du solvant sur les teneurs en CPT obtenus par l'extraction solide-liquide	21
Figure 13	Effet du temps sur les teneurs en CPT obtenus en extraction solide-liquide	22
Figure 14	Effet du solvant sur le taux des FT obtenus par extraction solide-liquide	23
Figure 15	Effet du temps d'extraction sur le taux des FT obtenus par extraction solide-liquide	24
Figure 16	Effet du solvant sur le taux d'inhibition (%) des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par extraction solide-liquide	25
Figure 17	Effet du temps d'extraction sur les taux d'inhibition (%) de l'ABTS obtenus par extraction solide-liquide	26
Figure 18	Effet du temps d'extraction sur le rendement des CPT des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU	28
Figure 19	Effet de la température d'extraction sur le taux des CPT des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU	29

Figure 20	Effet du temps d'extraction sur le taux des FT des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU	31
Figure 21	Effet de la température d'extraction sur le taux des FT des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU	32
Figure 22	Effet du temps d'extraction sur le pourcentage d'inhibition de l'ABTS des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU	33
Figure 23	Effet de la température d'extraction sur le pourcentage d'inhibition de l'ABTS des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU	34
Figure 24	Comparaison des teneurs en polyphénols des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU (température 40°C) et extraction conventionnelle solide-liquide à 25°C en fonction du temps (2h30, 3h30 et 4h30)	36
Figure 25	Comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU après 45 min en fonction de différentes températures et teneurs des FT après 2h30 en extraction conventionnelle	38
Figure 26	Comparaison des taux d'inhibition de l'ABTS des extraits de cladode d' <i>OFI</i> obtenus par EAU réalisée après 45 min à différentes températures, et par EC réalisée à différents temps d'extraction et à 25°C	39

Liste des Tableaux

N° du Tableau	Légende	N° Page
Tableau I	Composition chimique des cladodes d' <i>O. ficus-indica</i>	5
Tableau II	Teneurs en minéraux des cladodes d' <i>O. ficus-indica</i>	5
Tableau III	Vitamines et bétalaïnes dans les cladodes d' <i>O. ficus-indica</i> .	6
Tableau IV	Les polyphénols des cladodes d' <i>O.ficus-indica</i>	7
Tableau V	Quelques activités biologiques des cladodes d' <i>OFI</i>	9
Tableau VI	Principales classes des flavonoïdes	11
Tableau VII	Capacités antioxydantes des extraits exprimées en équivalent trolox (CAET)	40

Remerciements
Dédicaces
Liste des Abréviations
Liste des Figures
Liste des Tableaux

Table des matières

Titre	N° Page
<i>Introduction</i>	1
<i>Partie théorique</i>	
<i>Chapitre I. Généralités sur le figuier de Barbarie</i>	
I.1. Dénomination du figuier de Barbarie.....	3
I.2. La position systématique.....	3
I.3. Biologie du figuier de Barbarie.....	3
I.4. Historique et répartition géographique.....	4
I.4. 1. Dans le monde.....	4
I.4. 2. En Algérie.....	4
I.5. Les Cladodes (raquettes) du figuier de Barbarie.....	4
I.5.1. Morphologie.....	4
I.5.2. Composition chimique des cladodes	5
I.5.2.1. Les Minéraux	5
I.5.2.2. Les Vitamines et Les Bétaïnes dans les cladodes d' <i>O. ficus-indica</i>	6
I.5.2.3. Les Stérols et les Saponines.....	6
I.5.2.4. Les mucilages.....	6
I.5.3. Les composés phénoliques des cladodes d' <i>O. ficus-indica</i>	7
I.5.4. Utilisation des cladodes d' <i>O. ficus-indica</i>	8
I.5.4.1. Applications économiques et écologiques.....	8
I.5.4.2. Indications thérapeutiques.....	9
<i>Chapitre II. Composés phénoliques et méthodes d'extractions</i>	
II.1. Définition des composés phénoliques	10
II.2. Classification des composés phénoliques.....	10
II.2.1. Polyphénols simples.....	10
II.2.1.1. Acides phénoliques.....	10

II.2.1.2. Flavonoïdes.....	10
II.2.1.3. Alcools phénoliques.....	11
II.2.2. Polyphénols complexes (tanins).....	11
II.3. Intérêts des polyphénols	11
II.4. Les procédés d'extractions des polyphénols.....	11
II.4.1. L'extraction par des techniques conventionnelles.....	12
II.4.2. L'extraction par de nouvelles techniques.....	12
II.5. L'extraction Assistée par Ultrasons (EAU).....	12
II.5.1. Définition des ultrasons.....	13
II.5.2. Mécanisme et principe de l'extraction par ultrasons.....	13
II.5.3. Avantages de l'extraction par ultrasons.....	13
II. 5.4. Inconvénients de l'extraction par ultrasons	14

Partie expérimentale

Chapitre III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel végétal.....	15
III.2. Extraction des composés phénoliques.....	15
III.2.1. Extraction Conventiionnelle (EC).....	16
III.2.2. Extraction assistée par Ultrasons (EAU).....	17
III.3. Dosage des composés phénoliques totaux (CPT)	18
III.4. Dosage des flavonoïdes totaux (FT).....	19
III.5. Evaluation de l'activité antioxydante par le test de l'ABTS	19
III.6. Etude statistique	20

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Extraction Conventiionnelle solide-liquide	21
IV.1.1. Effet de la concentration en éthanol sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT).....	21
IV.1.2. Effet du temps d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT)	22
IV.1.3. Effet de la concentration en éthanol sur les teneurs en flavonoïdes totaux (FT).....	23
IV.1.4. Effet du temps d'extraction sur les flavonoïdes totaux (FT).....	24
IV.1.5. Effet de la concentration en éthanol sur l'activité antioxydante.....	25

IV.1.6. Effet du temps d'extraction sur le taux d'inhibition de l'ABTS.....	26
IV.2. Extraction assistée par Ultrasons (EAU)	27
IV.2.1. Effet du temps d'extraction par EAU sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT).....	27
IV.2.2. Effet de la température d'extraction par EAU sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT)	29
IV.2.3. Effet du temps d'extraction par EAU sur les teneurs en flavonoïdes totaux (FT).....	30
IV.2.4. Effet de la température d'extraction par EAU sur les teneurs en flavonoïdes totaux (FT).....	31
IV.2.5. Effet du temps d'extraction par EAU sur l'activité antioxydante	33
IV.2.6. Effet de la température d'extraction par EAU sur l'activité antioxydante.....	34
IV.3. Comparaison des deux méthodes d'extraction utilisées	35
IV.3.1. Comparaison des teneurs en composés phénoliques totaux entre les deux méthodes d'extraction en fonction du temps	35
IV.3.2. Comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux entre les deux méthodes d'extraction en fonction des différentes températures.....	37
IV.3.3. Comparaison des de la capacité antioxydante des extraits entre les deux méthodes d'extraction en fonction du temps et de la température.....	39
Conclusion	41

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Opuntia ficus-indica [L.] Mill est l'une des espèces des cactacées du genre *Opuntia* la plus répandue dans le monde et la seule cultivée dans la zone méditerranéenne, où elle est utilisée principalement pour la production de fruits, mais aussi comme fourrage dans les terres arides et semi-arides pendant la période de sécheresse où la pénurie de plantes herbacées se produit (**Inglese et al., 2018**).

L'*Opuntia ficus-indica* (OFI) est une plante à croissance rapide, qui s'adapte facilement aux sols pauvres et aux faibles besoins en eau. Le potentiel de production de biomasse et de séquestration du carbone de l'*Opuntia ficus-indica* est un trait intéressant car il pousse là où aucune autre culture n'est capable de pousser (**Aragona et al., 2018; El-Hawary et al., 2020**).

Les branches d'*Opuntia*, communément appelées cladodes, ont une forme de pagaie avec une couverture cireuse pour empêcher la perte d'eau par transpiration, et assurer la fonction synthétique de la plante. La littérature récente a considéré les cladodes d'*Opuntia*, surtout à un jeune âge (nopals), comme une source de nutriments actifs et de substances phytochimiques comme les mucilages, les pectines, la cellulose, l'hémicellulose, la lignine, les stérols, les vitamines, les polyphénols et les alcaloïdes. Ces substances sont capables de procurer le bien-être des consommateurs et une forte valeur ajoutée aux produits pharmaceutiques, nutraceutiques et alimentaires (**Moussaoui et al., 2022**).

Il existe trois grandes classes de produits chimiques végétaux : les terpénoïdes, les métabolites phénoliques, et les alcaloïdes (**Harborne, 1999**). Parmi ces trois groupes, les composés phénoliques sont les plus importants pour les applications alimentaires et font l'objet des recherches les plus approfondies (**King & Young, 1999**).

Les composés phénoliques protègent les plantes, les fruits et les légumes des dommages oxydatifs et ont été utilisés comme antioxydants par l'homme. Trouver de nouveaux antioxydants sûrs à partir de sources naturelles présente un grand intérêt pour les applications dans le domaine des antioxydants naturels, des aliments fonctionnels et des nutraceutiques. Les cladodes de l'*Opuntia ficus-indica* ont un potentiel nutraceutiques et biotechnologiques par leurs contenus phytochimiques (**Angulo-Bejarano et al., 2014**).

Récemment, des techniques d'extraction telles que l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction accélérée par solvant et l'extraction par fluide supercritique ont été développées pour l'extraction des composés polyphénoliques des plantes (**Ong, 2004**). Parmi ces techniques, l'extraction assistée par ultrasons (EAU) est une alternative simple, économique et efficace par rapport aux techniques d'extraction conventionnelles

Introduction

(Ilghami *et al.*, 2015). C'est une méthode d'extraction rapide et efficace qui utilise des ondes ultrasoniques pour créer l'effet de cavitation dans le solvant par lequel le mouvement de petites bulles sous vide dans le liquide augmente la pénétration du solvant dans les matières premières végétales (Teng *et al.*, 2014).

Lors de l'utilisation de l'EAU, de nombreux facteurs affectent les performances d'extraction, tels que la nature du solvant, et les paramètres physiques tels que le temps et la température, tous ces facteurs interagissant les uns avec les autres. Il est donc important de tester les interdépendances de différentes variables pour maximiser l'extraction des métabolites (Brahemi *et al.*, 2022).

D'un autre côté, afin d'éviter la dégradation des composés bioactifs ou des réactions indésirables comme l'oxydation, il est recommandé de contrôler ces acteurs dans les méthodes d'extraction. Les conditions d'extraction sont donc essentiels pour obtenir la plus grande quantité de composés bioactifs avec des propriétés antioxydantes (De Santiago *et al.*, 2021).

L'objectif de ce travail est d'extraire des composés phénoliques des cladodes du figuier de Barbarie de l'espèce *Opuntia ficus indica*, provenant de la wilaya de Souk Ahras (Sidi fredj), par deux techniques différentes : l'extraction conventionnelle solide-liquide (EC) et l'extraction assistée par ultrasons (EAU). Aussi l'étude des effets des principaux paramètres opératoires sur l'extraction des polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante des extraits obtenus a été effectuée.

Ce manuscrit comprend quatre chapitres :

- ✓ Le premier concerne des données bibliographiques de la plante étudiée (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill).
- ✓ Le deuxième chapitre traite des généralités sur les composés phénoliques et les méthodes d'extraction.
- ✓ Le troisième décrit le matériel et la méthodologie utilisés dans la préparation de ce travail.
- ✓ Le quatrième présente les résultats obtenus et leurs discussions.

Ces chapitres sont précédés par une introduction et ils sont clôturés par une conclusion.

Partie Théorique

Chapitre I
Généralités sur le figuier de
Barbarie

I.1. Dénomination de figuier de Barbarie

Le figuier de Barbarie porte souvent son nom espagnol, le Nopal. Ce mot vient des mots aztèques pour le cactus, "nocheznopalli" ou "no palli" (Abascal & Yarnell, 2000). L'*Opuntia ficus-indica* est communément connu sous le nom de figuier de Barbarie, chardon d'Inde, figuier à raquettes, figuier d'Inde, Opunce, Cactus Nopal, prickly pear, el-tin-el-chaouki ou el hindi (Reynolds & Arias, 2001).

I.2. La position systématique

Opuntia ficus-indica (L.) Mill., appartient à la famille des Cactacées, une famille qui comprend environ 1500 espèces de cactus (El Mostafa *et al.*, 2014).

La position systématique du figuier de Barbarie est comme suit (Harrat, 2020)

Règne :	<i>Plantae</i>	Famille :	<i>Cactaceae</i>
Sous règne :	<i>Tracheobionta</i>	Sous-famille :	<i>Opuntioideae</i>
Division :	<i>Magnoliophyta</i>	Tribu :	<i>Opuntieae</i>
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>	Genre :	<i>Opuntia</i>
Sous classe :	<i>Caryophyllidae</i>	Espèce :	<i>ficus indica</i>
Ordre :	<i>Caryophyllales</i>	Nom binominal :	<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Miller, 1768

I.3. Biologie du figuier de Barbarie

L'*Opuntia ficus-indica* est un arbuste ou un arbre pouvant atteindre 5 m de haut, formant un tronc robuste avec l'âge (Orwa *et al.*, 2009). L'*OFI* est une plante résistante à la sécheresse et dotée d'un métabolisme acide crassulacéen. Les cladodes verts ou "nopalitos" (35-45 cm de long et 20-30 cm de large) ont une forme spatulée et sont fortement succulents avec d'abondantes petites épines (Figure 1). Le figuier de Barbarie a un système racinaire superficiel (profondeur maximale de 30 cm). Les fleurs rouges, violettes, ou jaunes (2 à 3 cm de longueur) sont hermaphrodites, avec 4 carpelles attachés enfermés dans une coupe florale et un réceptacle inférieur (ovaire). Les fruits (figues ou figues de Barbarie) sont enfermés dans une peau épaisse, couverte de petits piquants, et contiennent jusqu'à 270 graines (Nedjimi, 2021).

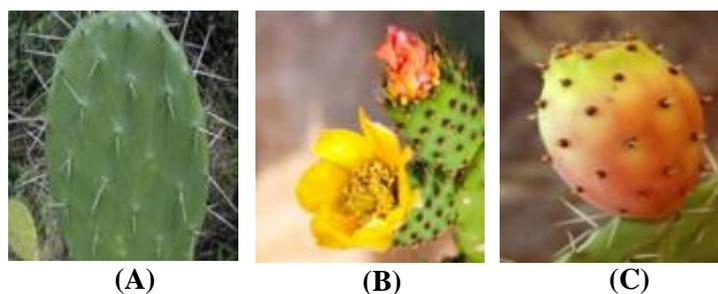


Figure 1 : *Opuntia ficus-indica* Mill. : (A) Le cladode, (B) la fleur, (C) le fruit (Nedjimi, 2021).

I.4. Historique et répartition géographique

I.4. 1. Dans le monde

Opuntia ficus indica (OFI) est une plante tropicale et subtropicale de la famille des *Cactaceae* qui pousse dans les régions arides et semi-arides de l'Amérique, d'Afrique, d'Asie, de l'Europe et de l'Océanie. Son origine remonte à l'ancienne civilisation mésoaméricaine (les Aztèques) où elle avait une grande importance culturelle et économique (Yahia & Saenz, 2011; Ochoa & Barbera, 2017). Le genre *Opuntia* est originaire du Mexique et figure sur l'emblème du drapeau Mexicain (Orwa *et al.*, 2009). Comme les plus anciens traités de médecine arabes ne mentionnent pas le cactus, il est généralement admis que l'Espagne l'aurait introduit au 15^{ème} siècle en provenance d'Amérique centrale, après la conquête du nord-ouest de l'Afrique (El Mostafa *et al.*, 2014).



Figure 2 : Distribution de l'*Opuntia ficus-indica* (Mariod *et al.*, 2020).

I.4. 2. En Algérie

Historiquement, l'introduction du cactus en Algérie a été similaire à celle du Maroc et de la Tunisie. Aujourd'hui, les zones dédiées à la culture de l'*Opuntia* s'étendent sur plus de 30 000 ha dont 60% dans la municipalité de Sidi-Fredj et le reste à Ouled Mimoune, Taoura, Drea et Ouilene. A l'origine, la zone a été étendue par le Haut-Commissariat pour le Développement de la Steppe, la direction des services agricoles et la conservation des forêts pour contrôler la progression du désert (Anonyme 1).

I.5. Les Cladodes (raquettes) du figuier de Barbarie

I.5.1. Morphologie

Les tiges qui remplacent les feuilles dans leurs fonctions sont composées d'un parenchyme blanc (tissu de base) et le contenant de la chlorophylle au sein du chlorenchyme

(tissu de cortex). Ce dernier est recouvert d'épines et poils ou trichomes multicellulaires, qui forment l'aréole et qui est une caractéristique des membres de la famille des cactacées (Anderson, 2001).

I.5.2. Composition chimique des cladodes

La composition chimique du figuier de Barbarie et des cladodes dépend de nombreux facteurs : l'espèce, le cultivar ou la variété, les facteurs environnementaux, tels que les conditions climatiques et conditions édaphiques, la gestion de la culture, y compris la fertilisation et le traitement post-récolte et l'état de maturité (Silva *et al.*, 2021). Les métabolites primaires des cladodes sont l'eau, les glucides et les protéines (Tableau I).

Tableau I : Composition chimique des cladodes d'*O. ficus-indica* (Perucini-Avenidaño *et al.*, 2021).

Composition en % poids sec	
Constituants	Pourcentage
Glucides	38,0 – 61,4
Protéines	6,7 -11,73
Lipides	0,1 – 2,16
Fibres bruts	5,97 – 55,05
Cendre	14,4 – 23,05

I.5.2.1. Les Minéraux

Le cladode d'*O. ficus-indica* est considérée comme une bonne source de minéraux, à savoir le potassium, le magnésium, le calcium et le sodium. Le contenu minéral détaillé d'*O. ficus-indica* est fourni dans le **Tableau II**.

Tableau II: Teneurs en minéraux des cladodes d'*O. ficus-indica* (Silva *et al.*, 2021).

Minéraux	mg/100 g
Magnésium	94,10 ± 28,3
Sodium	1,71 ± 0,99
Potassium	224 ± 74
Calcium	177 ± 31
Manganèse	0,78 ± 0,24
Fer	0,13 ± 0,05
Zinc	0,37 ± 0,21
Cuivre	0,06 ± 0,03
Phosphate	0,53
Molybdène	16,38 ± 6,49
Chrome	0,03 ± 0,01

I.5.2.2. Les Vitamines et les Bétaïnes dans les cladodes d'*O. ficus-indica*

Plusieurs vitamines telles que l'acide ascorbique, les caroténoïdes et le folate total, la vitamine E, ont été rapportées dans la littérature. L'étude sur les cladodes frais et transformés de l'*OFI* a montré que les cladodes transformés ont une excellente source de bétacyanines et de bétaxanthines comme présenté dans le **Tableau III**.

Tableau III: Vitamines et bétalaïnes dans les cladodes d'*O. ficus-indica* (Mariod, 2020).

Composés	Concentration Pour 100 g de poids frais
Vitamine C	7-77 mg
β -carotene	11,3-1787 μ g
Folate total	133,8 μ g
Vitamin E totale	11,9 mg
Niacine	0,46 mg
Riboflavine	0,60 mg
Bétacyanines	0,32-1,72 mg
Bétaxanthines	0,332-1,7 mg

I.5.2.3. Les Stérols et les Saponines

Les cladodes de l'*OFI* sont une excellente source de stérols et de saponines. Des analyses de l'extrait de cladodes de l'*OFI* ont permis de détecter plusieurs stérols dont β -sitostérol, β -campestérol, campestanol, Δ 5-avenasterol, Δ 7-stigmasterol et stigmastanol. En plus des composés stérols composés, plusieurs saponines dont le campesteryl 3 β -D glucopyranoside, le 3 β -D-glucopyranoside de stigmastérium et le 3 β -D-glucopyranoside de sitostérium ont été détectés aux différents stades de maturité (Mariod, 2020).

I.5.2.4. Les mucilages

Le mucilage de l'*Opuntia ficus-indica* est un polysaccharide contenant une structure moléculaire allant jusqu'à 30 000 monosaccharides. Ce polymère a une structure très ramifiée qui contient des résidus d'arabinose, de galactose, d'acide galacturonique, de rhamnose et de xylose. Les polymères composant le mucilage sont des polymères de haut poids moléculaire entre 15,3 et 15,7 $\times 10^6$ g/mol¹, le reste étant des polymères de faible poids moléculaire qui agissent comme un polyélectrolyte (Felkai-Haddache *et al.*, 2016).

Le mucilage est produit principalement dans le parenchyme. Les parois cellulaires du parenchyme sont constituées de microfibrilles de cellulose associées entre elles en bandes, qui

sont entrelacées les unes aux autres dans un réseau relativement peu coordonné (Malainine *et al.*, 2001).

Le mucilage a une structure extrêmement poreuse. Il s'agit d'une structure caractéristique des adsorbants qui présentent une structure de réseau tridimensionnel. Leurs propriétés physiques leur permettent de capturer et de stocker l'eau et l'humidité dans leurs trous microscopiques, qui sont disposés en couches, pores et canaux (Adjeroud *et al.*, 2020).

I.5.3. Les composés phénoliques des cladodes d'*O. ficus-indica*

Les cladodes ont été caractérisés par la présence d'acides phénoliques et de flavonoïdes tels que l'isorhamnetin et le kaempférol, la quercétine et l'isoquercitrine, dont la plupart se trouvent généralement sous leurs forme glucoside, rutinoside et xyloside (De Santiago *et al.*, 2021). Le **Tableau IV** présente la composition en polyphénols des cladodes d'*O.ficus indica*

Tableau IV : Les Polyphénols des cladodes d'*O.ficus indica* (Albergamo *et al.*, 2022).

Polyphénols	Composition en mg/100 g
Acide gallique	33,27 ± 3,55
Acide protocatéchique	50,61 ± 4.47
Acide 4-hydroxybenzoïque	9,44 ± 1.26
L'acide vanillique	84,15 ± 10.14
Acide syringique	166,22 ± 18.99
Acide cinnamique	42,42 ± 3.10
Acide chlorogénique	179,22 ± 22.49
Acide caféique	23,50 ± 5.09
Acide p-coumarique	498,16 ± 58.38
Acide férulique	69,92 ± 9.23
Acide sinapique	20,21 ± 2.04
Acides phénoliques totaux	1177,12 ± 41.89
Rutine	500,05 ± 33.39
3-O-glucoside d'isorhamnétine	149,71 ± 10.13
Kaempférol-3-O-rutinoside	253,46 ± 48.05
Kaempférol-3-O-glucoside	479,77 ± 31.90
Isorhamnétine-3-O-rutinoside	703,33 ± 28.45
Quercétine	48,77 ± 7.70
Lutéoline	49,29 ± 2.83
Apigénine	167,06 ± 14.54
Kaempférol	309,38 ± 50.83
Flavonoïdes totaux	2660,84 ± 68.48
Polyphénols totaux	3837,96 ± 110.37

I.5.4. Utilisation des cladodes d'*O. ficus-indica*

I.5.4.1. Applications économiques et écologiques

Les différentes applications des cladodes d'*O. ficus-indica* sont résumées comme suit :

- Aliments et boissons : divers produits alimentaires ainsi que des boissons alcoolisées et non alcoolisées sont fabriquées à partir des jeunes cladodes (nopalitos). Les cladodes servent aussi à l'alimentation du bétail (**Louacini et al, 2012**).
- Industrie pharmaceutique : comprend les extraits de mucilage pour la protection de la muqueuse gastrique en capsules et comprimés avec de la farine de cladodes.
- Industrie cosmétique : crèmes, lotions, shampooings et écrans solaires sont produits à base de cladodes.
- Additifs naturels tels que les gommes (hydrocolloïdes) provenant des cladodes.
- Intrants agricoles : amélioration des sols, de la matière organique et du drainage grâce à l'utilisation des produits de la poire de cactus (**Ramadan et al., 2021**).
- Compléments alimentaires : par exemple, farines et fibres de cladodes. La farine des cladodes peut être une source prometteuse de fibres alimentaires, de minéraux et de composés bioactifs (composés phénoliques et caroténoïdes), ce qui est recommandé pour améliorer la bioactivité et la qualité nutritionnelle des aliments (**Nabil et al., 2020**). Des pâtes ayant de bonnes caractéristiques organoleptiques et sensorielles en termes de consistance à la cuisson et de palatabilité ont été obtenues par l'ajout de 3 % d'extrait d'*OFI* à une farine de blé dur local (**Giglio et al., 2020**).
- Biocomposites de polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate (PHBVL) : des fibres végétales extraites des cladodes de la plante d'*Opuntia ficus-indica* sont utilisées comme renforcement dans les biocomposites PHBV (**Alane et al., 2022**).
- Film comestible : Le contenu et les propriétés du Nopal rendent possible la formulation de films comestibles. **González Sandoval et al. (2019)** ont développé et caractérisé des films comestibles biodégradables contenant du mucilage d'*Opuntia ficus-indica*.

I.5.4.2. Indications thérapeutiques

Médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle, l'*Opuntia ficus indica* a été utilisée pour le traitement des brûlures, des plaies, des œdèmes, l'hyperlipidémie, l'obésité et la gastrite catarrhale. Les extraits alcooliques sont indiqués pour leur action anti-inflammatoire, hypoglycémiques et antivirale

(El Motafa *et al.*, 2014).

✚ Activités biologiques des cladodes de l'*Opuntia ficus-indica*

Certaines recherches ont rapporté que le cladode de l'*Opuntia ficus-indica* présentait des valeurs élevées de certains nutriments, ainsi que des composés bioactifs qui montrent leur efficacité dans le traitement de plusieurs maladies (Nabil *et al.*, 2020). Quelques exemples sont rapportés dans le **Tableau** ci-dessous.

Tableau V : Quelques activités biologiques des cladodes d'*OFI* (Perucini-Avendaño *et al.*, 2021; Vicidomini *et al.*, 2021).

Activités biologiques	Composés bioactifs
Anti-inflammatoire	Glycosides Isorhamnetin Conjugués d'Isorhamnetine Flavonoïdes
Antidiabétique	Farines obtenues à partir de différents stades de maturité
Activité antimicrobienne et anti-biofilm	Polyphénols
Antioxydants	Quercétine, isorhamnetine et kaempferol Polysaccharides- Cladode déshydraté- Polyphénols- Flavonoïdes- Cladodes de cactus fermentés
Propriétés hypoglycémiques	Farines obtenues à partir de différents stades de maturité
Hypercholestérolémie	Dérivés de l'isorhamnetine et acide piscidique
Activité neuroprotectrice	Polyphénols
Immunoprotecteur	Polyphénols
Propriétés thermoprotectrices	Bétanine
Antiprolifération dans le carcinome du côlon humain	Polyphénols
Potentiel prébiotique	Polyphénols
Antiviral (anti-COVID-19)	Flavonols et glucosides de flavonols

Chapitre II
Composés phénoliques
et méthodes d'extractions

II.1. Définition des composés phénoliques

Les polyphénols représentent une famille de molécules organiques largement répandues dans le règne végétal. Comme le suggère leur nom, leurs structures chimiques sont caractérisées par la présence de plusieurs groupes phénoliques, qui peuvent être associés à des groupes de substances chimiques plus ou moins complexes, généralement de poids moléculaire élevé. Ces composés sont généralement des sous-produits du métabolisme des plantes (El Mostafa *et al.*, 2014).

II.2. Classification des composés phénoliques

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes. (Clifford, 1999).

II.2.1. Polyphénols simples

II.2.1.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1) et de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3) (Bruneton, 2008).

II.2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire qui partagent un squelette commun (C6-C3-C6), composé de deux cycles de phényles (A et B) liés par un cycle C de pyrane (hétérocyclique) (Figure 3).

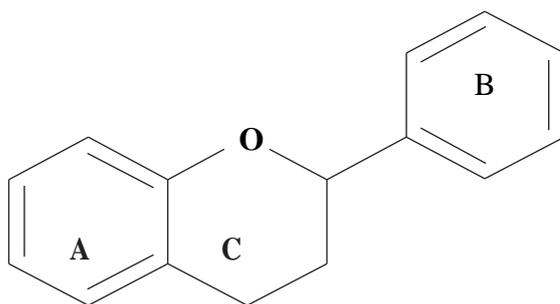


Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes (Rodriguez De Luna *et al.*, 2020).

Les flavonoïdes sont classés principalement en 14 groupes. Les types les plus connus sont énumérés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Principales classes des flavonoïdes (Rodriguez De Luna *et al.*, 2020).

Classes de flavonoïdes	Sources
Les Aurones	Les fleurs
Les Flavanones	Les fleurs, les feuilles, les fruits
Les Isoflavanones	Les légumineuses
Les Flavones	Le miel et le raisin
Les Flavonols	Une grande variété de fruits et légumes
Les Anthocyanidines	Les fruits sauvages en particulier ceux qui ont une couleur violette
Les Anthocyanines	Les fruits rouges

II.2.1.3. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4dihydroxyphenylethanol) sont les principales molécules de cette classe (D'Archivio *et al.*, 2007).

II.2.2. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd *et al.*, 2008).

II.3. Intérêts des polyphénols

Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre les agents pathogènes et les infections. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une des caractéristiques d'une sous-classe des flavonoïdes (Halimi, 2015).

Les effets bénéfiques des polyphénols sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité de capter les radicaux libres. Ces substances présentent des propriétés anticancéreuses, antimutagènes et antibactériennes non négligeables (Redoyal *et al.*, 2005 ; Hatano *et al.*, 2005).

II.4. Méthodes d'extractions des polyphénols

Le principal procédé pour la récupération et la caractérisation des composés phénoliques à partir de matières végétales est l'extraction. La plupart des études sur les substances phytochimiques bioactives des matières végétales ont eu pour but de sélectionner la méthode d'extraction appropriée (Vural *et al.*, 2018).

II.4.1. L'extraction par des techniques conventionnelles

Les méthodes d'extraction conventionnelles comprennent ; l'extraction par solvant, la distillation, le pressage et la sublimation. L'extraction par solvant est la méthode la plus utilisée selon les processus suivants : (1) le solvant pénètre dans la matrice solide, (2) le soluté se dissout dans le solvant, (3) le soluté se diffuse hors de la matrice (**Figure 4**) et enfin les solides extraits sont collectés (**Ramadan et al., 2021**).

Les principaux inconvénients méthodes d'extraction conventionnelles sont :

- 1) Ce sont des méthodes longues ;
- 2) Consommations importantes de solvant ;
- 3) Risque de dégradation des matières traitées (à chaud par exemple) ;
- 4) Diminution du rendement d'extraction (**Wang et al, 2006**).

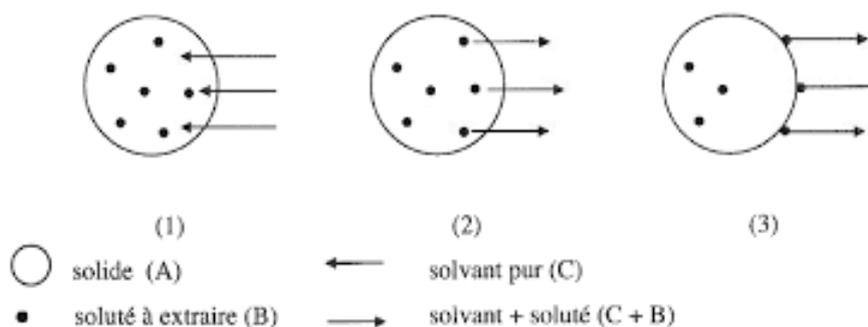


Figure 4 : Extraction solide-liquide

II.4.2. Extraction par de nouvelles techniques

Récemment, un certain nombre de nouvelles techniques d'extraction, telles que l'extraction par fluide supercritique (EFS), l'extraction assistée par ultrasons (EAU), l'extraction assistée par micro-ondes (EAM), l'extraction par eau sous-critique (EES), l'extraction accélérée par solvant (EAS) ou l'extraction par fluide sous pression (EFP), ont été utilisées pour l'extraction de substances phytochimiques bioactives à partir de sous-produits (**Vural et al., 2018**).

II.5. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

Parmi les nouvelles techniques d'extraction, l'EAU. Il s'agit d'une technologie d'extraction verte et propre pour les molécules bioactives d'importance commerciale et a été utilisée pour l'extraction des composés phénoliques de diverses plantes (**Vural et al., 2018**).

II.5.1. Définition des ultrasons

Les ultrasons sont un type particulier d'ondes sonores qui dépasse l'audition humaine. Ils sont compris entre 20 kHz et 100 MHz. Ils traversent un milieu en créant une compression et une expansion, ce processus produit un phénomène appelé cavitation, qui signifie production, croissance et effondrement de bulles. Une grande quantité d'énergie peut être produite par la conversion de l'énergie cinétique du mouvement en chauffage du contenu de la bulle, les bulles ont une température d'environ 5000 K (Azmir *et al.*, 2013).

II.5.2. Mécanisme et principe de l'extraction par ultrasons

Le mécanisme d'extraction par ultrasons implique deux types principaux de phénomènes physiques, la diffusion à travers la paroi cellulaire et le rinçage du contenu de la cellule après avoir brisé les parois (Figure 5). La teneur en eau de l'échantillon, le degré de broyage, la taille des particules et le solvant sont des facteurs très importants pour obtenir une extraction efficace et effective. En outre, la température, la pression, la fréquence et la durée de la sonication sont les facteurs qui régissent l'action des ultrasons (Azmir *et al.*, 2013).

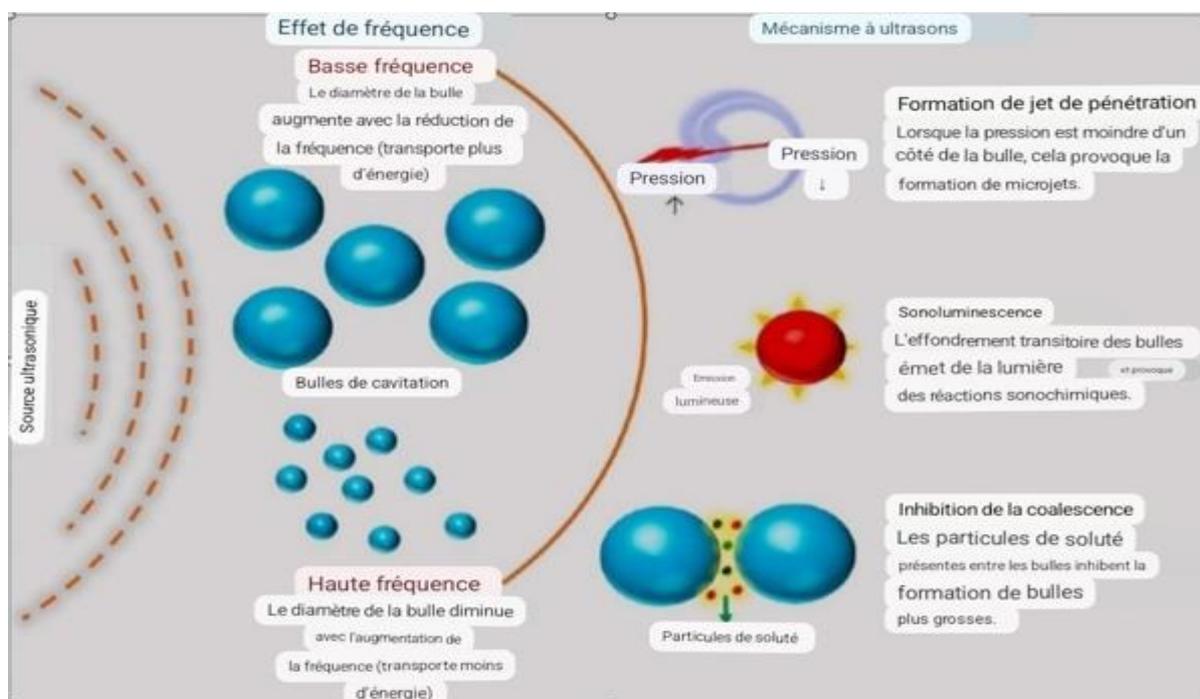


Figure 5. Effet des paramètres ultrasoniques et leurs mécanismes d'action (Rao *et al.*, 2021).

II.5.3. Avantages de l'extraction par ultrasons

- L'extraction assistée par sonication est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Par rapport à l'extraction conventionnelle, elle offre plusieurs avantages, comme une diminution des coûts d'extraction et de traitement du temps de traitement, de la quantité

d'énergie et de solvants utilisés, ce qui fait de l'EAU une technique "respectueuse de l'environnement (**Brahmi et al., 2022a**).

- Le principal avantage de l'EAU peut être observé dans les échantillons de plantes solides car l'énergie ultrasonore facilite la lixiviation des composés organiques et inorganiques de la matrice végétale (en augmentant le transfert de masse entre le solvant et la matière végétale). En plus, on note une meilleure pénétration du solvant, une moindre dépendance vis-à-vis du solvant, une extraction à des températures plus basses, des taux d'extraction plus rapides et des rendements plus élevés du produit (**Azmir et al., 2013**).
- L'application des ultrasons élargit la gamme de choix de solvant qui peut remplacer les solvants organiques toxiques par des solvants GRAS (Generally Recognized as Safe). La sélection de solvants GRAS offre plusieurs avantages en matière de santé et de sécurité, et réduit les coûts et les impacts environnementaux du processus d'extraction (**Vural et al., 2018**).
- Elle présente également l'avantage de pouvoir être utilisée pour compléter ou améliorer l'extraction par autres techniques telles que les fluides supercritiques ou les micro-ondes (**Rodriguez De Luna et al., 2020**).

II. 5.4. Inconvénients de l'extraction par ultrasons

L'un des inconvénients l'extraction par ultrasons réside dans le système de sonde où seules de petites quantités de masse peuvent être traitées. Cependant, ce problème peut être résolu en opérant en série. Le principal inconvénient du système à bain est sa faible reproductibilité car l'eau contenue dans la cuve en acier inoxydable ou dans la verrerie atténue l'énergie qui n'est pas transmise de manière adéquate au solvant (**Rodriguez De Luna et al., 2020**).

Partie Expérimentale

Chapitre III
Matériel et méthodes

III.1. Matériel végétal

Le présent travail a été réalisé sur les cladodes du figuier de Barbarie de l'espèce *Opuntia ficus indica*, provenant de la wilaya de Souk Ahras (région de Sidi fredj). Il est à noter que le matériel végétal a été identifié et fourni par Mr. Mahdeb Amokrane (INRAA, Béjaia) sous forme broyée (poudre) (**Figure 6**).



Figure 6 : Poudre de cladode d'*Opuntia ficus-indica*

Les cladodes ont été récoltées dans la wilaya de Souk Ahras en Mars 2017. La poudre a été préparée par exposition au préalable des cladodes au soleil à l'air libre, puis par séchage à l'étuve aérée à 56 °C pendant 48h. La cuticule n'a pas été retirée et le tamisage après broyage a été fait avec un tamis de 200 µm, puis la poudre a été conservée hermétiquement au réfrigérateur (4 C°).

III.2. Extraction des composés phénoliques

Les composés phénoliques ont été extraits des cladodes du figuier de Barbarie de l'espèce *Opuntia ficus indica* en utilisant deux méthodes d'extraction, l'extraction conventionnelle solide-liquide et l'extraction assistée par ultrasons.

En ce qui concerne le type de solvant, l'éthanol possède certains avantages par rapport aux autres solvants organiques, il est reconnu pour son caractère écologique et sa durabilité, ainsi que sa faible toxicité pour l'homme. Ainsi, l'éthanol ou l'éthanol aqueux sont plus sûrs et plus tolérables pour une application dans les industries agroalimentaires.

Les étapes effectuées, pendant les extractions et les dosages, sont résumées dans la **Figure 7**, avec un ordre précisé en chiffres romains. Dans l'extraction conventionnelle (EC) solide-liquide, l'effet de la concentration du solvant et du temps d'extraction ont été étudiés en utilisant le mélange éthanol-eau à différents pourcentages (5, 10, 20,40 ,50 et 80%), et en variant le temps d'extraction (2h30, 3h30 et 4h30), respectivement. Une fois que la valeur optimale du ratio du solvant (éthanol-eau) a été déterminé, l'extraction assistée par Ultrasons (EAU) est effectuée en examinant d'abord

l'effet du temps (15, 30, 45 et 60 min) d'extraction et l'effet de la température d'extraction (25, 40, 60 et 70°C) sur le contenu polyphénolique. L'objectif de l'EAU est d'étudier l'éventuelle amélioration des rendements de l'extraction conventionnelle sur les polyphénols et les flavonoïdes totaux et l'activité antioxydante.

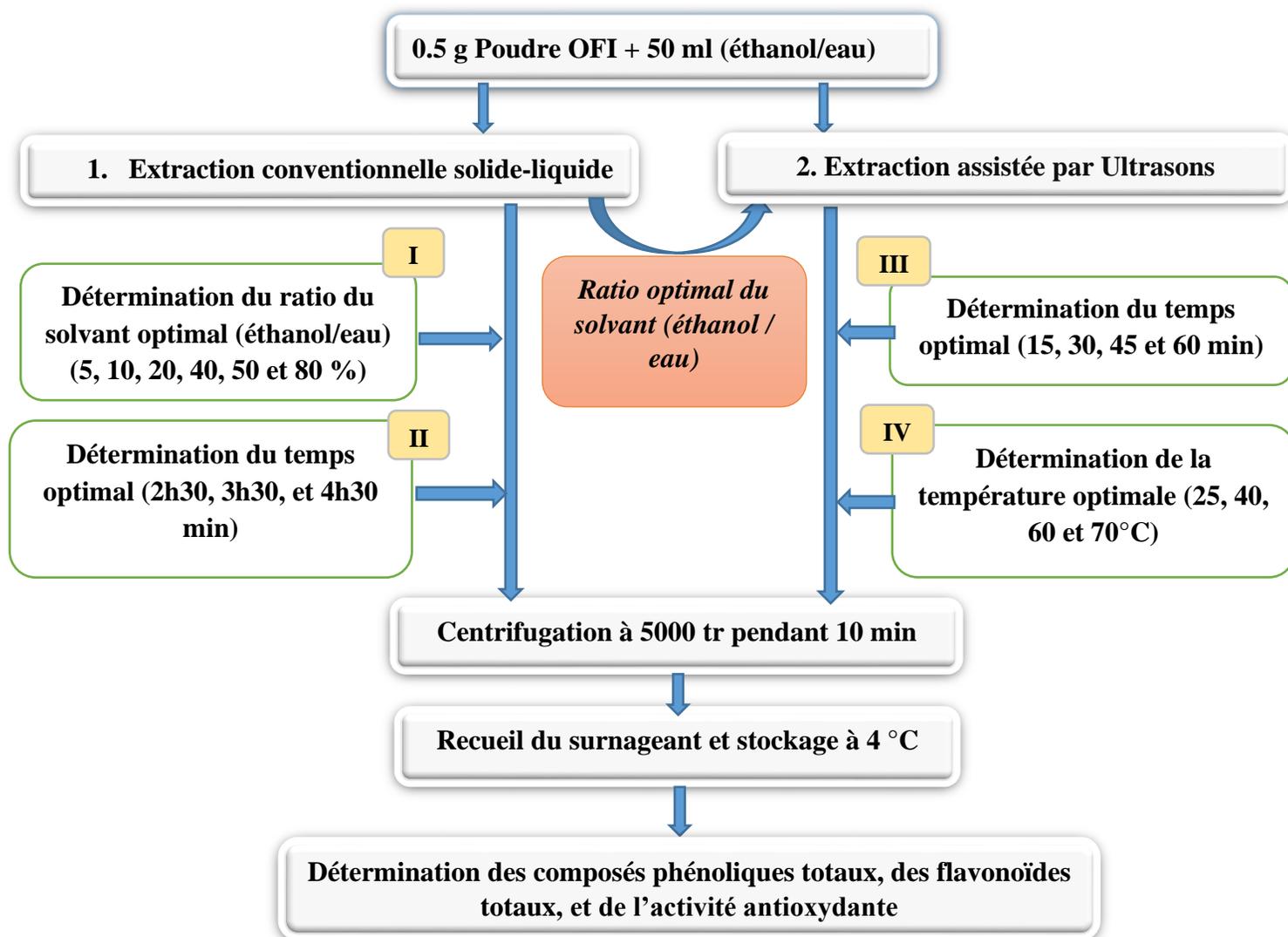


Figure 7 : Schéma explicatif des extractions réalisées (extraction conventionnelle (EC) solide-liquide et Extraction assistée par Ultrasons (EAU)).

III.2.1. Extraction conventionnelle (EC)

La procédure d'extraction conventionnelle solide-liquide sous agitation des composés phénoliques totaux (CPT) a été réalisée selon la méthode décrite par **Dahmoune et al., (2013)** en y apportant quelques modifications.

Une quantité de 0.5 g de la poudre d'OFI de Souk Ahras a été ajoutée à 50 mL de la solution éthanol-eau dans un bécher (80 mL) à diverses concentrations (5, 10, 20, 40, 50, et 80 %). Les mélanges ont été soigneusement préparés et placés sous agitation sur une plaque agitatrice (600-700 tr/min) pendant deux heures et demi à température ambiante (20-22 °C) (**Figure 8**). Une fois le ratio optimal du couple solvant-eau fixé, le temps d'extraction a été prolongé à 3h30 puis 4h30. Après extraction, les mélanges ont été centrifugés à 5000 tr/10 min. Chaque extraction a été répétée trois fois. Les surnageants ont été récupérés et conservés à 4° C jusqu'aux analyses.



Figure 8. Extraction conventionnelle des CPT sur plaque agitatrice.

III.2.2. Extraction assistée par Ultrasons (EAU)

Après avoir déterminé le ratio optimal du mélange éthanol-eau en extraction conventionnelle, une quantité de 0.5 g de la poudre d'OFI a été ajoutée à 50 mL de solvant d'extraction. Les mélanges sont placés dans un bain à ultrason (Puissance, fréquence et pulsion fixes de 100 W, 42 Khz \pm 6 %, et 5 secondes, respectivement) (**Figure 9**). Les extraits sont récupérés après centrifugation à 5000 tr/10 min et chaque extraction est répétée trois fois. Pour optimiser les rendements d'extraction, l'EAU a été réalisée à différents temps d'extraction (15, 30, 45 et 60 min) à température fixe de 25 °C. Après détermination du temps optimal d'extraction, le facteur température a été varié (40, 50 ,60 et 70 °C) afin d'améliorer le rendement d'extraction.



Figure 9 : Dispositif de l'extraction assistée par Ultrasons des CPT.

Après chaque étape d'extraction, vient une succession de dosages spectrophotométriques des extraits, afin de quantifier leurs taux en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux et d'évaluer l'activité antioxydante par le test de l'ABTS.

III.3. Dosage des composés phénoliques totaux (CPT)

➤ Principe

La concentration de la teneur en composés phénoliques totaux a été estimée par le dosage au Folin-Ciocalteu. Le réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), qui est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Figure 10**).

➤ Mode opératoire

La détermination de la teneur en polyphénols totaux est réalisée selon le protocole décrit par **Georgé *et al.*, (2005)**. Une quantité de 625 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 1/10) a été ajoutée à 125 μ L d'extraits. Après une incubation de 2 min à l'obscurité, 0,5 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75g/L) sont ajoutés, les extraits sont incubés à 50°C au bain Marie pendant 15 minutes puis refroidis, les absorbances sont enfin mesurées à 760 nm contre un témoin ou l'extrait est remplacé par la même concentration (ou ratio) du solvant utilisé en extraction.

➤ Expression des résultats

Les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche de cladode d'OFI (mg EAG/g MS), et déterminés par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique présentée en Annexe. Le blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction.

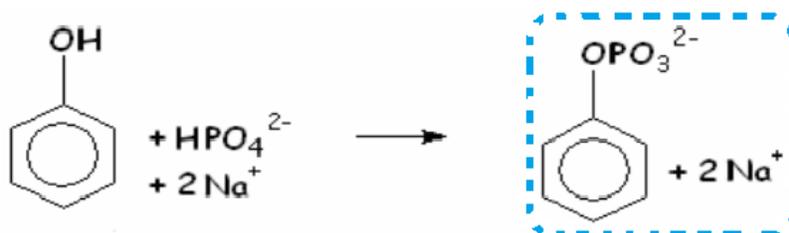


Figure 10 : Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu

III.4. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)

➤ Principe

Suite à la formation d'un complexe entre le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes, une coloration jaunâtre apparaît dans les extraits (**Lagnika, 2005**).

➤ Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué selon la méthode décrite par **Djeridane et al., (2006)**, un volume de 1 mL d'extrait (avec dilution convenable) est ajouté à 1 mL d'une solution d' AlCl_3 (2%, m/v). Après 15min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 430 nm.

➤ Expression des résultats

La teneur en FT a été exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche (mg EQ/g MS) et déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (Annexe). Le blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction.

III.5. Evaluation de l'activité antioxydante par le test de l'ABTS

➤ Principe du test

Ce test est basé sur une propriété intrinsèque de la molécule d'ABTS. En effet, en présence de radicaux hydroxyles, l'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est oxydé en un radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (après l'arrachement d'un électron e^- à un atome d'azote) (**Figure 11**). En présence de Trolox (ou antioxydant donneur de H^\bullet), l'atome d'azote concerné piège un H^\bullet conduisant à l'ABTS), ce qui entraîne la décoloration de la solution (**Rice-Evans et al., 1995**)

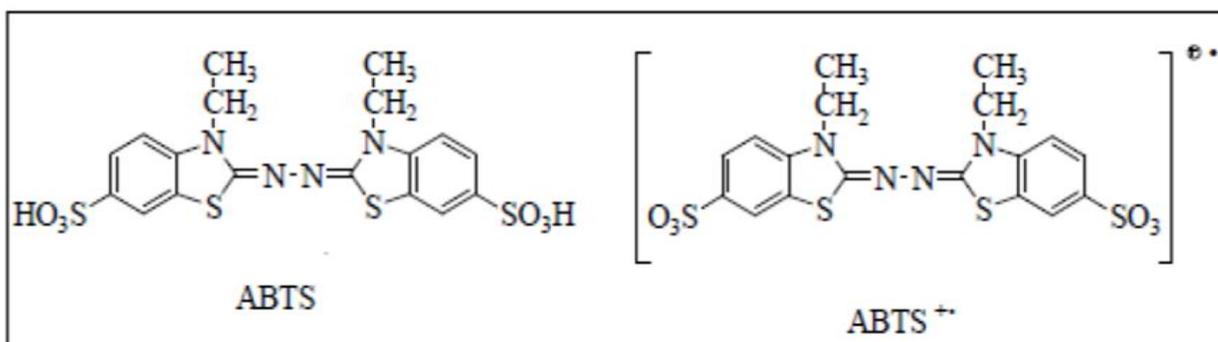


Figure 11 : Structure de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), forme réduite ABTS, forme radical cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (**Rice-Evans et al., 1995**).

➤ **Mode opératoire**

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺ est évalué par la méthode décrite par (Re *et al.*, 1999). Le radical ABTS⁺ à 7 mM est obtenu par la dissolution de 38,4 mg d'ABTS, de 6,62 mg de persulfate de potassium et de 10 mL d'eau distillée. La solution est solubilisée pendant 5 min à température ambiante et incubée pendant une nuit à l'abri de la lumière. La solution d'ABTS est diluée avec de l'éthanol à 96 % jusqu'à l'obtention d'une densité optique initiale (DO_i) à 734 nm de 0.7 ± 0.02. Puis 200 µL d'extrait à doser sont additionnés à 1800 µL de la solution d'ABTS. Après 6 min d'incubation à l'obscurité on mesure la réaction de réduction de la solution d'ABTS⁺ à 734 nm, qui sera considérée comme la densité optique finale (DO_f).

➤ **Expression des résultats**

La capacité antioxydante des extraits testés est exprimée par rapport aux concentrations du standard Trolox (Annexe), donc en mg équivalent Trolox par g de matière sèche (mg CAET/g MS). Le blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction. Le pouvoir antioxydant de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺, les taux d'inhibition ont été calculés à partir de la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (DO_i - DO_f / DO_i) \cdot 100$$

Où DO_i : Densité optique initiale

DO_f : Densité optique finale

III.6. Etude statistique

Une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie du test HSD de Tukey du logiciel JMP (SAS, USA), ont été réalisés pour montrer s'il existe des différences significatives entre les valeurs obtenues. Les évaluations sont basées sur le niveau de signification du $p < 0,05$. Toutes les expériences ont été répétées trois fois et les résultats sont rapportés comme moyenne ± S.D.

Chapitre IV
Résultats et discussion

Beaucoup de paramètres peuvent influencer l'efficacité de l'extraction des polyphénols, comme la méthode d'extraction, la nature et la concentration du solvant, la température et le temps d'extraction (Banik et Pandey, 2007 ; Silva *et al.*, 2007). Ainsi, l'effet de la concentration du solvant et du temps d'extraction a été analysé en extraction conventionnelle, puis une comparaison des rendements obtenus est effectuée en extraction par ultrasons après optimisation du temps et de la température d'extraction.

IV.1. Extraction Conventionnelle solide-liquide

Dans cette méthode nous avons étudié l'effet de deux paramètres : la concentration du solvant d'extraction (éthanol) et le temps d'extraction sur la teneur en composés phénoliques totaux (CPT), et celle des flavonoïdes totaux (FT), et le taux d'inhibition de l'ABTS+.

IV.1.1. Effet de la concentration en éthanol sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT)

L'extraction conventionnelle solide-liquide sous agitation a été effectuée à température ambiante (20-22 °C) sur la poudre (0.5 g) de cladode d'*OFI* souk Ahras immergée dans 50 mL d'éthanol. L'effet des différentes concentrations en éthanol (5, 10, 20, 50, 80 %) sur l'efficacité de l'extraction, qui a duré 2h30 est montré ci-dessous :

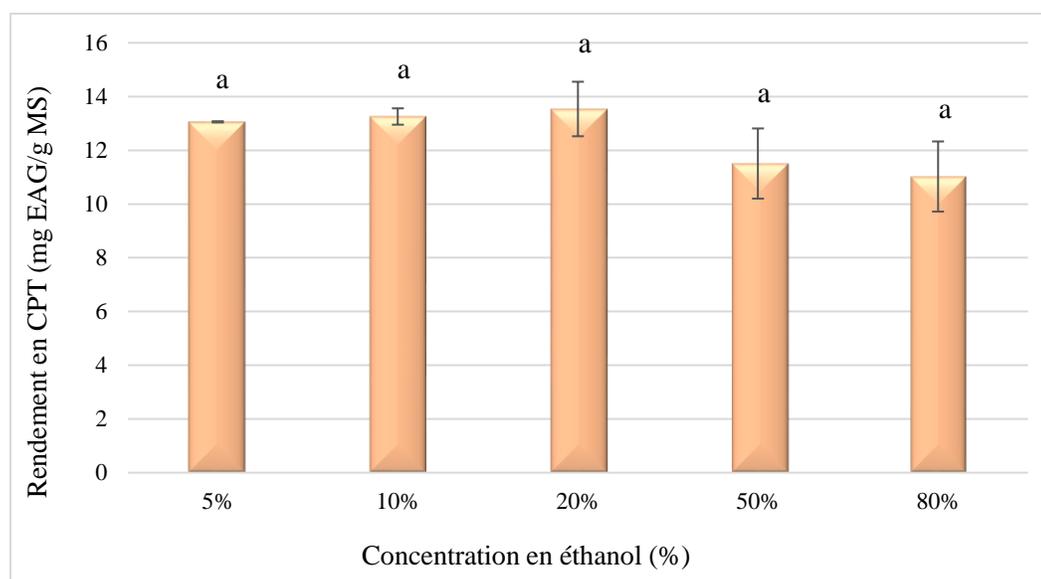


Figure 12 : Effet du solvant sur les teneurs en CPT obtenus par l'extraction solide-liquide.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les concentrations testées. Cela dit, la plus forte teneur est enregistrée en utilisant l'éthanol à 20 % ($13,53 \pm 1,01$ mg EAG/g MS), suivi par le rendement obtenu après extraction par l'éthanol à 10 et 5 % ($13,25 \pm 0,03$ et $13,05 \pm 0,02$ mg EAG/g MS, respectivement), tandis que l'extrait obtenu avec l'éthanol à 80% a révélé la plus faible valeur ($11,02 \pm 1,30$ mg EAG/g MS).

Selon Li Yang *et al.*, (2009) Une forte concentration en éthanol ne produit pas de gonflement de la matrice végétale, donc il n'y a pas de pénétration du solvant dans la plante ce qui peut provoquer la dénaturation des protéines empêchant la dissolution des polyphénols.

IV.1.2. Effet du temps d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT)

Les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT), obtenus par extraction solide-liquide dans une solution à 20 % d'éthanol (ratio idéal dans le résultat précédent) pendant 2h30, 3h30 et 4h30 min, sont montrés ci-dessous :

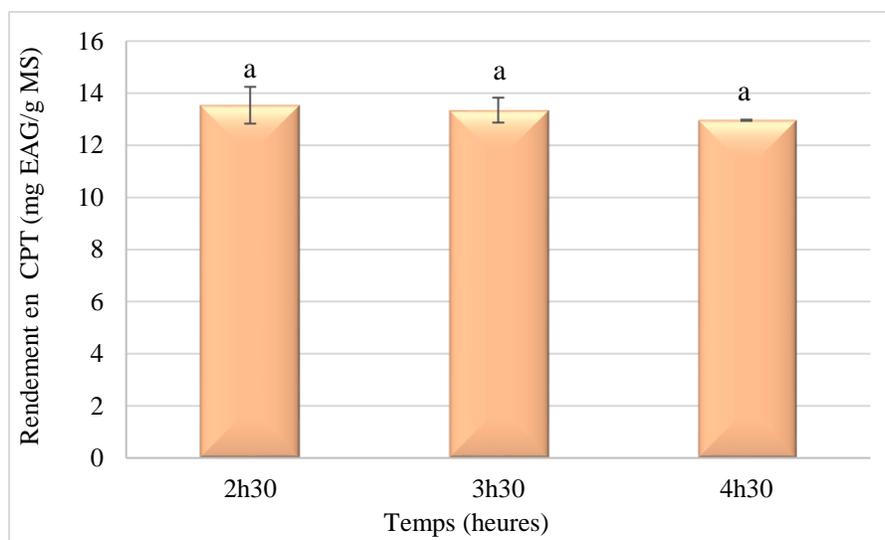


Figure 13 : Effet du temps sur les teneurs en CPT obtenus en extraction solide-liquide.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Les résultats montrent que le prolongement du temps d'extraction entraîne une légère diminution de rendement en composés phénoliques totaux (CPT). En comparant les différents temps d'extraction, il a été conclu que le temps d'extraction n'a pas affecté les CPT de manière significative. On a observé que la teneur en CPT la plus élevée est obtenue à 2h30 ($13,53 \pm 1,01$ mg EAG/g MS), suivi par les rendements à 3h30 ($13,34 \pm 0,47$ mg EAG/g MS), et à 4h30 ($12,96$

$\pm 0,02$ mg EAG /g MS), ceci implique que le processus a atteint l'équilibre rapidement, ce qui pourrait être dû à la petite taille des matériaux, à leur porosité élevée, à leur dispersion élevée due à l'agitation (Nguyen-Kim *et al.*, 2021).

Brahmi *et al.* (2022b) ont observé, lors de l'extraction conventionnelle des polyphénols de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.), une diminution du rendement après 150 min d'extraction, ils l'expliquent par la dégradation de certains composés actifs pendant le temps prolongé d'extraction, et les composés oxydés générés peuvent se transformer en constituants insolubles. Aussi, dans le travail de Dahmoune *et al.* (2013) le rendement d'extraction des composés phénoliques totaux des écorces de *Citrus limon* diminuait avec le temps.

Dent *et al.*, (2013) ont rapporté que l'augmentation du temps d'extraction augmente potentiellement la perte de solvant par évaporation, et il n'a pas permis d'augmenter l'efficacité de l'extraction conventionnelle, cela a entraîné un gaspillage d'énergie et de solvant. Ils ont alors suggéré d'utiliser un temps d'extraction ne dépassant pas les 3 heures.

IV.1.3. Effet de la concentration en éthanol sur les teneurs flavonoïdes totaux (FT)

Le dosage des flavonoïdes totaux des extraits aqueux des cladodes OFI obtenu par extraction solide-liquide pendant 2h30 indique la présence de ce type de métabolites secondaires, les résultats sont montrés ci-dessous :

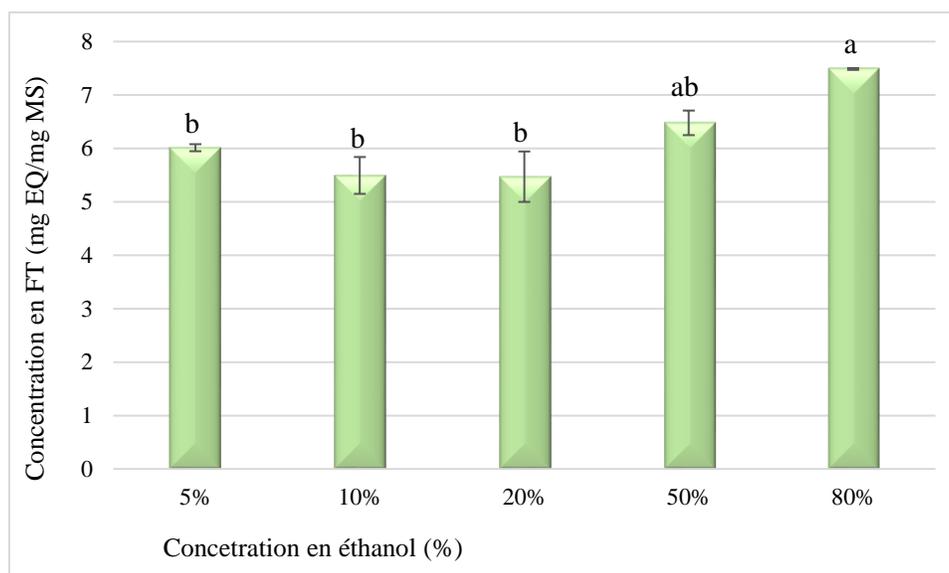


Figure 14 : Effet du solvant sur le taux des FT obtenus par extraction solide-liquide.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Les résultats montrent que l'éthanol à 80 % a donné les teneurs les plus élevées, soit une concentration de $7,48 \pm 0.63$ mg EQ/g MS, ce qui n'est pas en corrélation avec le résultat obtenu pour les polyphénols. Il apparaît ici que la grande majorité des flavonoïdes contenus dans l'OFI ne sont pas hydrosolubles. Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en flavonoïdes, il est préférable d'employer des mélanges de solvants organiques appropriés avec de l'eau. Selon **Mohammedi et Atik, (2011)**, **Zhao et al., (2006)**, et **Zhou et Yu, (2004)**, l'utilisation de solvants organiques aqueux se traduit par des extraits hautement riches en composés phénoliques.

Les études sur la structure chimique des flavonoïdes révèlent que leur solubilité est affectée par leur capacité à former une liaison hydrogène avec les solvants (**Rodriguez De Luna et al., 2020**). En général, une concentration plus faible d'éthanol convient à l'extraction des composés flavonoïdes polaires et une concentration plus élevée d'éthanol convient à l'extraction des composés flavonoïdes non polaires (**Wang et al., 2014**).

Les flavonoïdes polaires ont une affinité pour les solvants tels que les alcools aqueux et purs, tandis que les non polaires tels que les isoflavones, les flavanones, les flavones, et les flavonols ont une affinité pour les solvants tels que le chloroforme, le dichlorométhane, l'éther diéthylique et l'acétate d'éthyle (**Rodriguez De Luna et al., 2020**).

IV.1.4. Effet du temps d'extraction sur les teneurs en flavonoïdes totaux (FT)

Les teneurs en flavonoïdes obtenus par extraction solide-liquide dans une solution à 20 % d'éthanol pendant 2h30, 3h30 et 4h30 min sont montrés ci-dessous :

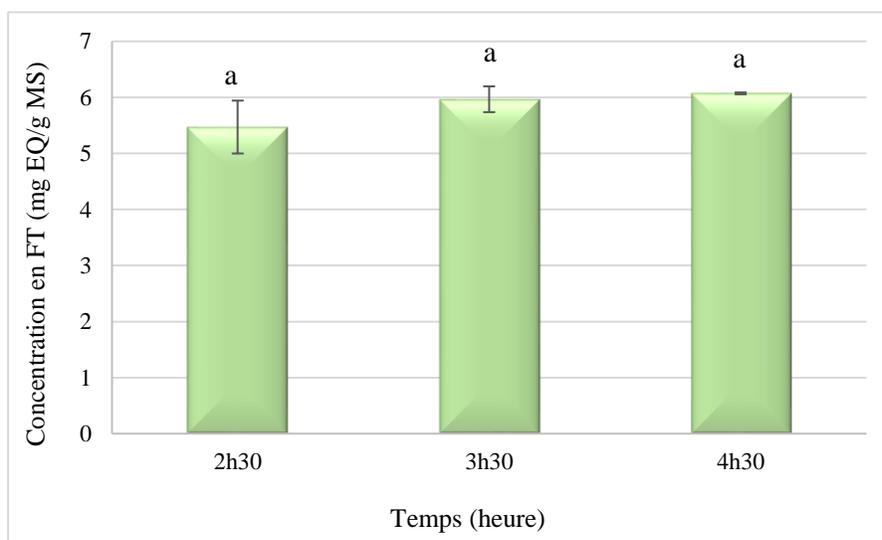


Figure 15 : Effet du temps d'extraction sur le taux des FT obtenus par extraction solide-liquide.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en flavonoïdes augmentent légèrement avec le temps d'une manière non significative, après 4h30 min d'extraction la concentration est passée de $5,47 \pm 0,47$ à $6,07 \pm 0,01$ mg EQ/g MS.

Ces résultats montrent la nécessité d'augmenter le temps de contact de la poudre de raquette avec le solvant d'extraction pour une extraction optimale des flavonoïdes.

IV.1.5. Effet de la concentration en éthanol sur l'activité antioxydante

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante via le calcul du pourcentage d'inhibition de l'ABTS en fonction de différentes concentrations d'éthanol sont illustrés par la Figure suivante :

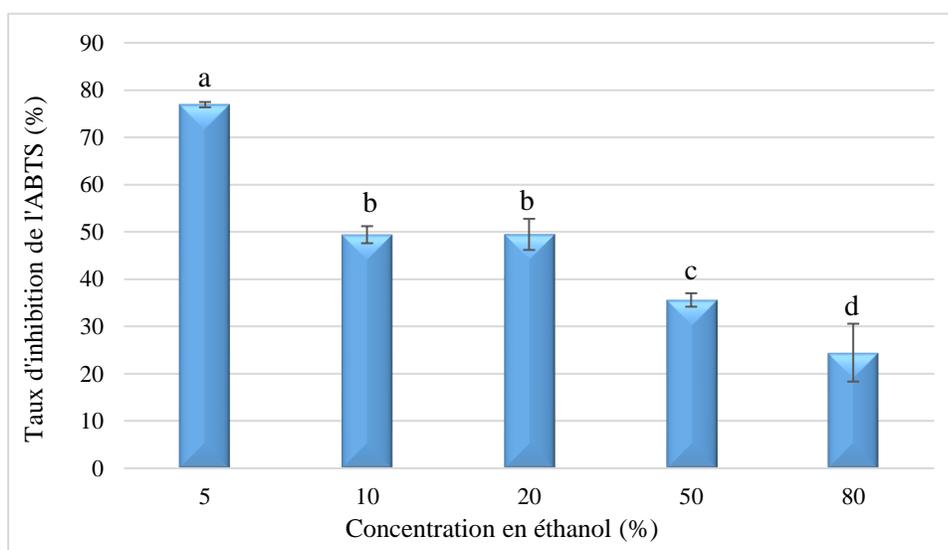


Figure 16 : Effet du solvant sur le taux d'inhibition (%) des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par extraction solide-liquide.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

D'après les résultats, il existe une différence significative entre les taux d'inhibition obtenus à différentes concentrations, bien qu'avec 5 % d'éthanol l'extrait présente le taux d'inhibition le plus élevé ($76,92 \pm 0,56$ %). Le taux le plus faible a été enregistré avec 80 % d'éthanol ($24,46 \pm 6,12$ %), tandis qu'à 20% d'éthanol le taux est de $49,47 \pm 3,29$ %. Ceci correspond globalement aux résultats obtenus concernant l'effet du solvant sur la teneur en composés phénoliques totaux (**Figure 12**), mise à part la valeur obtenue avec 5 % d'éthanol qui pourrait correspondre aux taux élevés des flavonoïdes totaux notés en **Figure 14**.

Il a été rapporté dans le travail de Dawidowicz et Olszowy (2011) qu'une accélération de la cinétique de la réaction de réduction de l'ABTS a lieu avec l'augmentation de la concentration de l'eau dans le système de mesure, ceci pourrait ainsi expliquer le taux d'inhibition élevé en utilisant un solvant de 5 % d'éthanol.

IV.1.6. Effet du temps d'extraction sur le taux d'inhibition de l'ABTS

Les résultats qui montrent l'inhibition du radical libre ABTS⁺ par les extraits obtenus avec 20 % d'éthanol en fonction du temps d'extraction sont représentés dans la **Figure 17**.

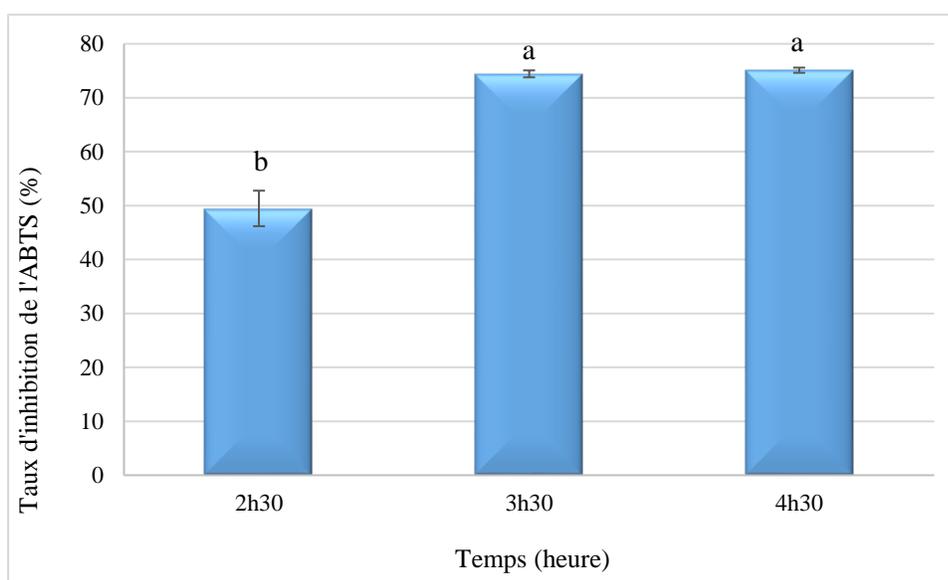


Figure 17 : Effet du temps d'extraction sur les taux d'inhibition (%) de l'ABTS obtenus par extraction solide-liquide

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Les résultats montrent que l'augmentation de la durée d'extraction de 2h30 à 3h30, est accompagnée par une élévation du taux d'inhibition de l'ABTS ($49,3 \pm 0,39$ à $74,43 \pm 0,63$ %), et au-delà, nous constatons une légère augmentation sans différence significative ($75,11 \pm 0,47$ %) à 4h30 min.

Ces résultats sont en corrélation avec les résultats de l'effet du temps sur la teneur en FT avec également 20 % d'éthanol (**Figure 15**). La courbe de corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur des FT est illustrée en Annexe (*Figure 4*). Cela est probablement expliqué par le fait que l'*OFI* de Souk Ahras est riche en flavonoïdes qui sont responsables du taux élevé d'inhibition.

L'une des propriétés bioactives les plus importantes des flavonoïdes est leur effet antioxydant (**Rodriguez De Luna et al., 2020**).

Il apparait dans cette partie de l'extraction conventionnelle des CPT (**Figure 12**) que la concentration de l'éthanol à 20 % soit la concentration idéale du solvant d'extraction choisi. Selon **Brahmi et al., (2022a)**, les polyphénols sont plus solubles dans les solvants polaires. Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence de groupes hydroxyles dans leur structure, ce qui les rend facilement extractibles par les solvants polaires. Ainsi cette concentration de l'éthanol (20 %) sera utilisée pour la suite des extractions assistées par ultrasons (EAU) des CPT, des FT et de l'analyse de l'activité antioxydante.

IV.2. Extraction assistée par Ultrasons (EAU)

Dans cette méthode innovante d'extraction assistée par Ultrasons (EAU) nous avons étudié l'effet de deux paramètres : le temps et la température d'extraction sur les rendements d'extraction des composés phénoliques totaux (CPT), des flavonoïdes totaux (FT), et le taux d'inhibition de l'ABTS+, afin de voir l'effet de l'EAU sur l'amélioration des teneurs des molécules d'intérêt par rapport à l'extraction conventionnelle (EC).

IV.2.1. Effet du temps d'extraction par EAU sur les teneurs composés phénoliques totaux (CPT)

Dans l'extraction assistée par ultrasons, la poudre de cladode (0.5 g) d'*OFI* est immergée dans 50 mL d'éthanol à 20 %, et est soumise aux ultrasons à l'aide d'un bain à Ultrasons. Une température de 25°C à différents temps (15, 30, 45 et 60 min) a été préalablement fixée. Les résultats sont montrés ci-dessous :

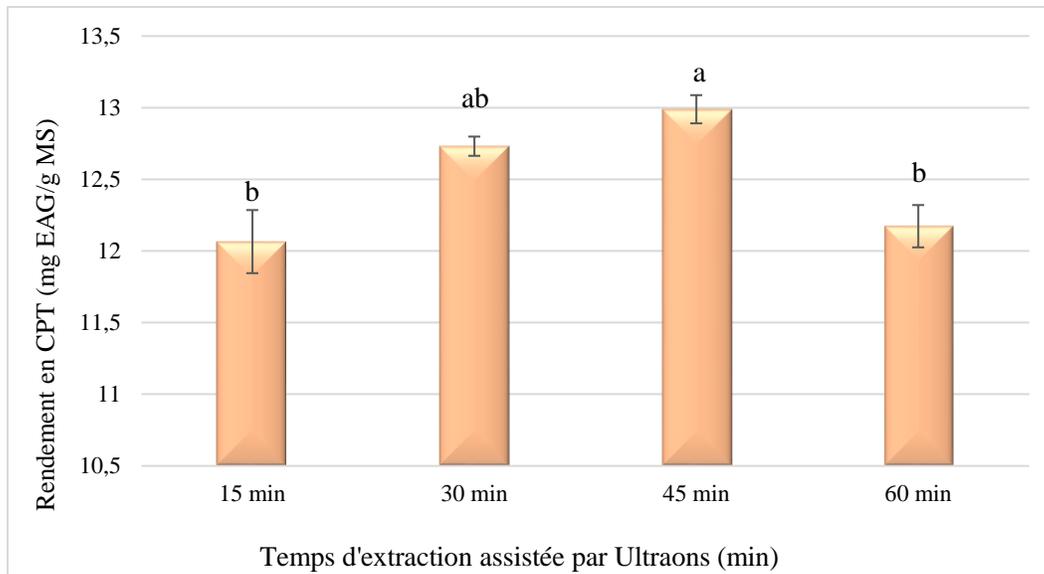


Figure 18 : Effet du temps d'extraction sur le rendement des CPT des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

La **Figure 18** montre qu'il existe des différences significatives entre les durées d'extraction testées, la teneur la plus élevée en CPT a été enregistrée pour la durée d'extraction de 45 min ($12,98 \pm 0,09$ mg EAG/g MS), tandis que les valeurs les plus faibles ont été enregistrées pour les temps d'extraction de 15 et 60 min ($12,06 \pm 0,37$ et $12,17 \pm 0,34$ mg EAG/g MS, respectivement).

Une augmentation du temps de sonication améliore le rendement en substances bioactives au départ, mais celui-ci en substances bioactives diminue lorsque le temps se prolonge (**Syed Jaapar et al., 2017**). Lors de l'augmentation initiale du temps de sonication, l'effet de cavitation de la sonication augmente le gonflement, l'hydratation, la fragmentation et la formation de pores dans le tissu cellulaire de la matrice végétale (**Sengar et al., 2019**). Cela entraîne la libération des composés bioactifs dans le solvant grâce aux taux de transfert de masse élevés et à la plus grande diffusivité du solvant dans la matrice.

Les dommages structurels intenses subis par les solutés, les collisions entre bulles et l'effet de saturation pourraient être à l'origine de la réduction du rendement d'extraction des substances bioactives en cas d'exposition prolongée aux ultrasons. En outre, la cavitation continue pendant

une période prolongée peut entraîner la dégradation des composés initialement extraits qui sont en suspension ou librement disponibles dans le solvant (Venkateswara Rao *et al.*, 2021).

IV.2.2. Effet de la température d'extraction par EAU sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT)

L'impact de la température sur l'extraction des composés phénoliques par EAU est évalué dans la gamme des températures suivantes : 25, 40, 60 et 70°C, pendant le temps d'extraction de 45 min préalablement fixé. La **Figure 19** illustre les résultats obtenus.

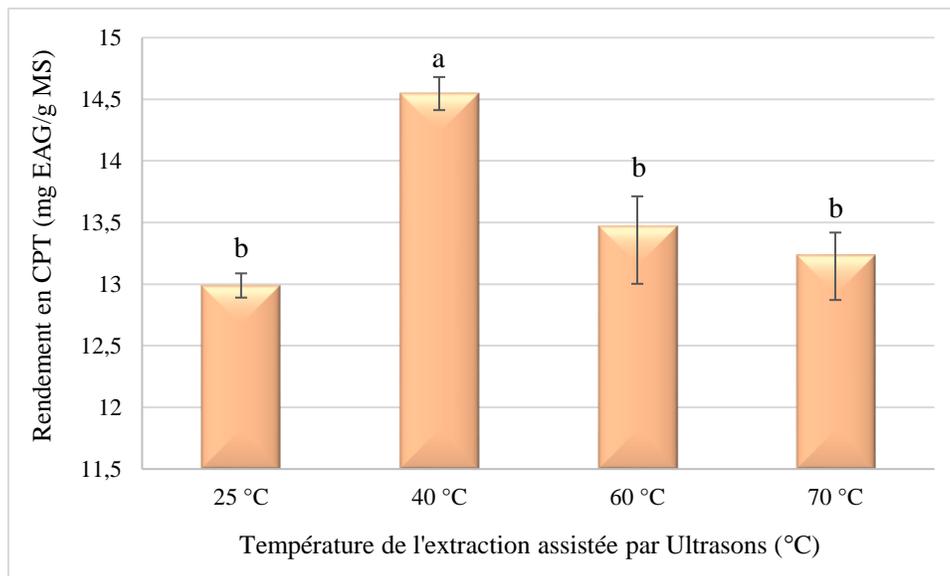


Figure 19 : Effet de la température d'extraction sur le taux des CPT des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

On observe à partir de cet histogramme qu'en augmentant la température du bain Ultrasons, le taux des CPT augmente par rapport à la température d'extraction initiale de 25 °C ($12,98 \pm 0,09$ mg EAG/g MS). La teneur la plus élevée est obtenue à 40 °C ($14,54 \pm 0,13$ mg EAG/g MS), mais le rendement chute significativement au-delà de cette température.

L'augmentation des rendements des CPT en EAU avec l'augmentation de la température pourrait être due à l'effet double sur le soluté et le solvant, où l'augmentation de la température améliore d'une part la solubilité et la désorption du soluté dans le solvant. D'autre part, elle réduit la viscosité et la tension superficielle des solvants en augmentant la pression de vapeur, ce qui

entraîne une augmentation des taux de transfert de masse et de la diffusivité du solvant dans les tissus cellulaires des plantes. De plus, une augmentation supplémentaire de la température peut favoriser une dégradation plus élevés des composés dans l'EAU, en raison de l'affaiblissement de l'effet de cavitation résultant d'une contrainte de cisaillement accrue, d'une pression de vapeur plus élevée et d'une tension de surface plus faible des bulles de cavitation (**Chemmat *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2021; Zia *et al.*, 2020**).

L'optimisation de la température peut également dépendre des autres paramètres d'extraction pour obtenir le rendement maximal des composés sélectionnés avec une prévention des composés thermolabiles, puisque ce paramètre peut varier en fonction de la nature du produit (**Venkateswara Rao *et al.*, 2021**).

L'augmentation de la température a un effet direct en augmentant le taux d'extraction. Certains travaux dans la littérature ont montré une cinétique de second ordre dans laquelle le taux d'extraction diminuait avec l'augmentation de la température pour l'extraction des polyphénols (**Rodriguez De Luna *et al.*, 2020**).

En comparant nos résultats à ceux obtenus par **Mahdeb *et al.* (2021)**, le contenu phénolique d'extraits éthanoliques de la même poudre d'OFI de la région de Souk Ahras est de l'ordre de 30.16 ± 0.4 mg EAG/g MS, cela dit les conditions d'extraction différent (extraction par ultrasons, temps d'extraction de 30 min, température 60 °C et solvant éthanolique à 50 %).

Harrat (2021) a rapporté que la teneur totale en polyphénols de l'extrait de cladode OFI de la région d'Es-Sania (Sud Oran) a été estimée à $70 \pm 0,5$ mg EAG/g MS. Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés dans ce travail. Ces variations peuvent s'expliquer par l'influence de plusieurs facteurs sur l'extraction des composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols. Outre les conditions environnantes qui l'entourent, l'extrahibilité de ces métabolites secondaires d'intérêt va dépendre des procédures expérimentales adoptées (polarité du solvant utilisé et les caractéristiques de la méthode employée) (**Khouchlaa *et al.*, 2018**).

IV.2.3. Effet du temps d'extraction par EAU sur les teneurs en flavonoïdes totaux (FT)

Le dosage des flavonoïdes a été effectué sur les mêmes extraits obtenus après EAU avec les mêmes conditions citées en section (V-2.1) pour le dosage des CPT (éthanol à 20%,

température de 25 °C) à différents temps d'extraction (15, 30, 45 et 60 min). Les résultats sont présentés dans la **Figure 20**.

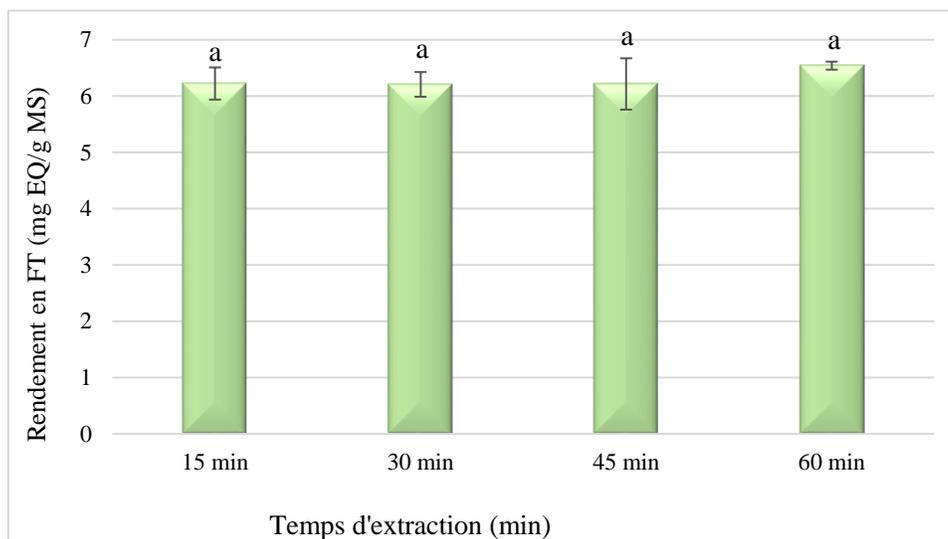


Figure 20 : Effet du temps d'extraction sur le taux des FT des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

D'après la **Figure 20**, il n'existe pas de différences significatives entre les concentrations obtenues, les résultats sont assez proches avec un rendement maximum obtenu après un temps d'extraction de 60 min ($6,54 \pm 0,07$ mg EQ /g MS). Ces résultats sont différents de ceux obtenus dans le cas de l'extraction des CPT. Apparemment le temps n'a pas d'effet sur les taux d'extraction des FT. Il est possible que la majorité de ce type de métabolites soit extraite dès le début de l'extraction.

IV.2.4. Effet de la température d'extraction par EAU sur les teneurs en flavonoïdes totaux (FT)

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué sur les mêmes extraits obtenus par EAU pour le dosage des CPT après 45 min d'extraction et aux différentes températures testées (25, 40, 60 et 70°C) (**Figure 14**), afin de voir également l'effet de la température sur l'extraction des FT. Les résultats sont illustrés dans la **Figure 21** ci-dessous.

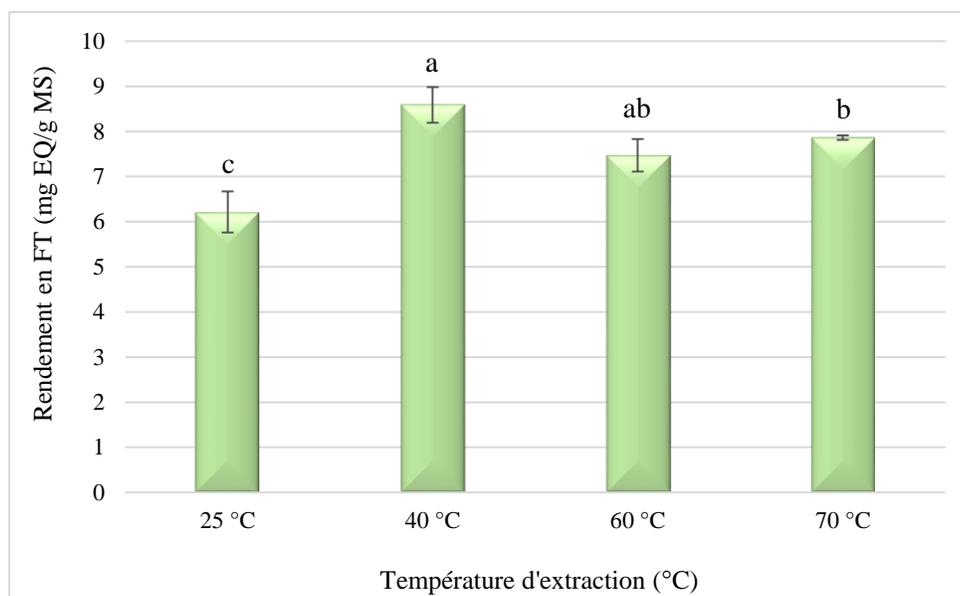


Figure 21 : Effet de la température d'extraction sur le taux des FT des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Le contenu en flavonoïdes totaux est en variation irrégulière, mais qui augmente d'une manière significative à 40°C. Au-delà de cette température nous constatons une légère diminution à 60°C (7.47 ± 0.36 mg EQ/g MS). La teneur la plus élevée en flavonoïdes a été enregistrée à 40 °C (8.58 ± 0.39 mg EQ/g MS) et la plus faible à 25 °C (6.21 ± 0.45 mg EQ/g MS).

Nous remarquons que cette température concorde avec la température maximale d'extraction des polyphénols totaux (40 °C). La courbe de corrélation entre les TPC et les FT dans la marge de 25 à 60 °C est illustrée en Annexes (*Figure 5*). Le contenu en flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux des cladodes d'*OFI* Souk Ahras est en variation irrégulière, ces derniers composés se sont avérés être instables à la chaleur.

Les cladodes *OFI* sont très riches en divers polyphénols (**Angulo-Bejarano *et al.*, 2014 ; Astello-García *et al.*, 2015**). Les teneurs significativement élevées des CPT obtenues à 40°C (**Figure 18**) pourraient indiquer que les extraits éthanoliques contiennent d'autres composés phénoliques tels que des tanins ou les acides phénoliques qui ont d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes.

Ces valeurs sont légèrement plus importantes que celles rapportées par **Mahdeb *et al.* (2021)** sur l'extrait d'*OFI* de Souk Ahras (2.87 ± 0.03 mg EQ/g MS), et 1.33 mg EQ/g MS pour

l'extrait d'*OFI* d'Akbou, résultats obtenus sous les conditions d'extraction en EAU de 30 min d'extraction, à une température de 60 °C et avec de l'éthanol à 50 %. Comme pour les polyphénols, la teneur en flavonoïdes des cladodes du figuier de Barbarie varie entre les cultivars, mais dépend surtout de la période de collecte car elle est fortement corrélée aux conditions environnantes.

IV.2.5. Effet du temps d'extraction par EAU sur l'activité antioxydante

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, le test ABTS a été effectué sur les mêmes extraits obtenus après EAU avec les mêmes conditions citées pour le dosage des CPT (température 25°C, éthanol 20 %) à différents temps d'extraction (15, 30, 45 et 60 min). Les résultats sont présentés dans la **Figure 22**.

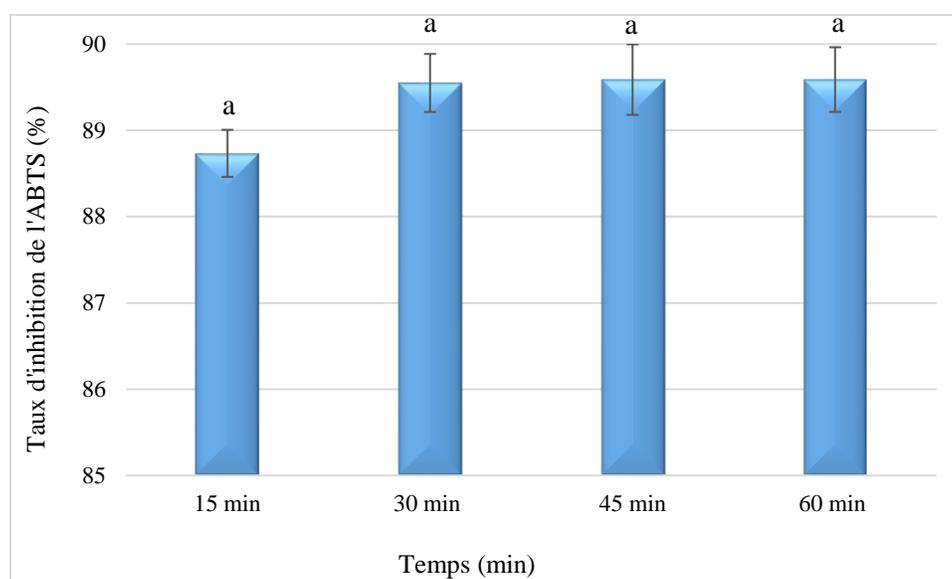


Figure 22 : Effet du temps d'extraction sur le pourcentage d'inhibition de l'ABTS des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Les extraits de poudre d'*OFI* manifestent une activité antioxydante par le test de l'ABTS avec un taux d'inhibition le plus faible obtenu à 15 min d'extraction ($88,73 \pm 0,74$ %) et le plus élevé à 45 min ($89,58 \pm 0,40$ %) et 60 min ($89,58 \pm 0,37$ %) sans aucune différence entre les deux températures d'extraction.

D'après **Silva et al. (2007)**, un temps d'extraction excessif n'est pas utile pour l'amélioration de la teneur en antioxydants extraits.

Ces résultats pourraient être en corrélation avec les teneurs enregistrées pour l'extraction des FT (**Figure 20**). Plusieurs études ont révélé que la capacité antioxydante des extraits de plantes riches en flavonoïdes était modérément élevée (**Cakir et al., 2003**).

Toutefois, dans le travail de **Dawidowicz et Olszowy (2013)**, il est mentionné que le type d'alcool utilisé influence significativement l'estimation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par le test ABTS, à savoir que leur activité antioxydante augmente avec l'allongement de la chaîne aliphatique de l'alcool (OH-C). Ceci résulte plutôt dans des changements d'énergie de solvation de l'ABTS (sa dissolution en présence de solvants) par les alcools employés, que de la dissociation des composés phénoliques. Cet article pointe les difficultés à estimer correctement les réelles propriétés antioxydantes des extraits végétaux par le test à l'ABTS.

IV.2.6. Effet de la température d'extraction par EAU sur l'activité antioxydante

Le test ABTS a été effectué sur les mêmes extraits obtenus après EAU avec les mêmes conditions citées pour le dosage des CPT (temps d'extraction 45 min, éthanol 20 %) à différentes températures (25, 40, 60 et 70 °C). Les résultats sont présentés dans la Figure ci-dessous :

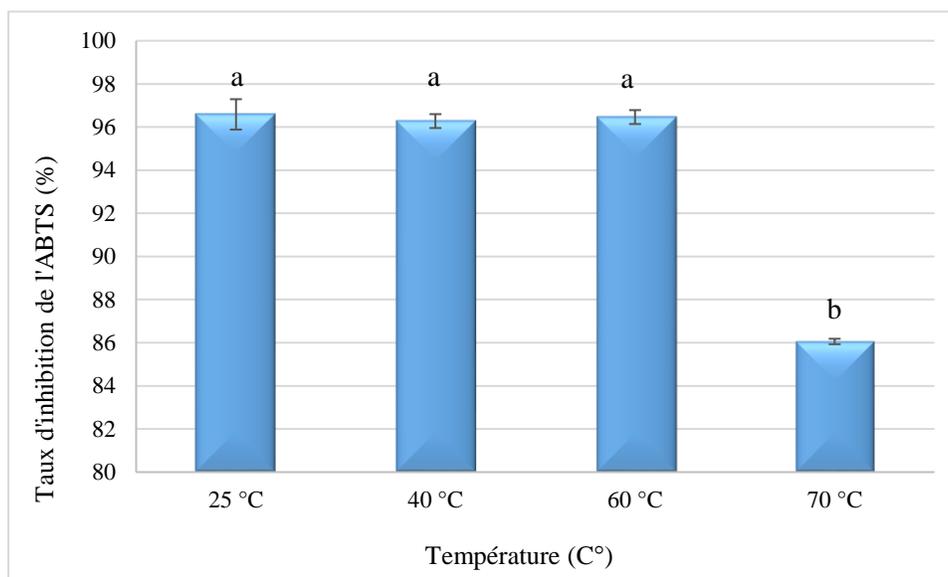


Figure 23 : Effet de la température d'extraction sur le pourcentage d'inhibition de l'ABTS des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

D'après les résultats, il n'existe pas de différence significative entre les taux d'inhibition obtenus aux températures de 25 à 60 °C, bien qu'à la température de 25 °C l'extrait présente le taux d'inhibition ($96,58 \pm 0,70$ %) le plus élevé en comparaison avec le taux le plus faible ($86,05 \pm 0,12$ %) obtenu à la température de 70 °C.

Il se peut que d'autres composés bioactifs interfèrent dans l'activité antioxydante. Plusieurs études ont montré une thermodestruction de certaines anthocyanines à températures élevées (de 45 à 100 °C). Les hautes températures peuvent avoir aussi un effet bénéfique sur l'activité antioxydante. Certains polyphénols augmentent leur capacité antioxydante par le processus de pyrolyse doux notamment dans le cas de l'acide caféique (**Nićiforović et Abramovič, 2014**).

Les polyphénols ayant des stœchiométries élevées ont une capacité importante à piéger les radicaux libres par transferts multiples d'atomes d'hydrogène ou d'électrons du phénol de départ et de certains de ses produits d'oxydation, comme dans le cas de la quercitrine (**Achat, 2013**).

IV.3. Comparaison des deux méthodes d'extraction utilisées

Après l'étude de l'effet de différents paramètres sur l'extraction conventionnelle liquide-solide et l'extraction aux ultrasons (EAU), une comparaison de l'efficacité des rendements des deux méthodes s'impose concernant la teneur en composés phénoliques, en flavonoïdes totaux, et l'activité antioxydante des extraits étudiés. Cette comparaison s'est faite comme suit :

IV.3.1. Comparaison des teneurs en composés phénoliques totaux entre les deux méthodes d'extraction en fonction du temps

Les résultats des rendements en TPC par l'EAU (éthanol à 20 %, durée d'extraction 45 min, température 40 °C), et les TPC obtenus par extraction conventionnelle (EC) (20 % éthanol, température de 25 °C, à différents temps d'extraction : 2h30, 3h30 et 4h30) sont illustrés dans la Figure suivante :

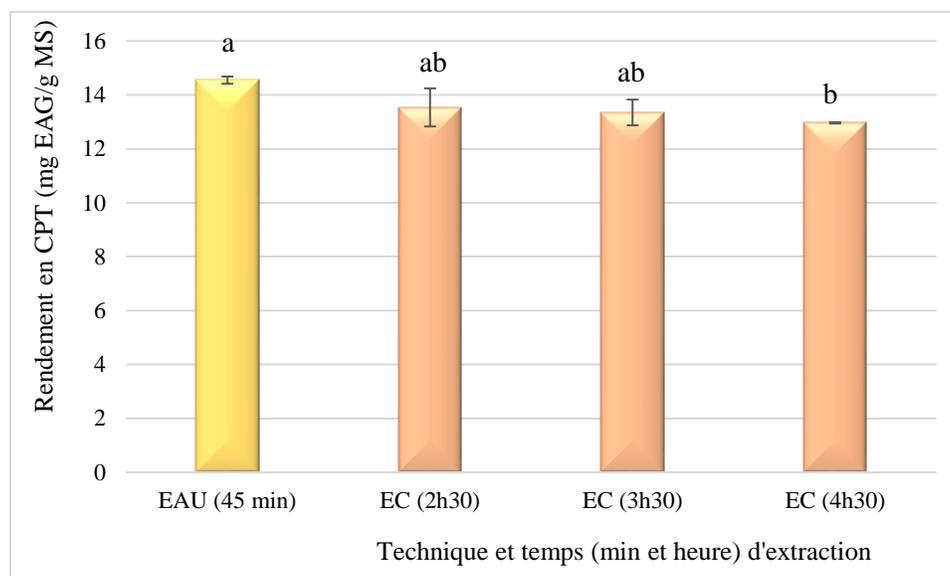


Figure 24 : Comparaison des teneurs en polyphénols des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU (température 40°C) et extraction conventionnelle solide-liquide à 25°C en fonction du temps (2h30, 3h30 et 4h30).

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

D'après les résultats obtenus, nous remarquons une amélioration de la teneur en polyphénols des extraits obtenus par l'EAU (14,54 ± 0,13 mg EAG /g MS) comparativement aux valeurs obtenues par l'extraction solide-liquide pendant 2h30 min (13,53 ± 0,70 mg EAG /g MS), 3h30 (13,34 ± 0,47 mg EAG /g MS), et 4h30 (12,96 ± 0,02 mg EAG /g MS). La différence entre les rendements n'est pas très significative avec les temps de 2h30 et 3h30.

Dahmoune *et al.*, (2013) ont comparé trois méthodes d'extraction des composés phénoliques à partir d'écorces de citron : extraction conventionnelle par solvant (ECS), extraction assistée par ultrasons (EAU) et extraction assistée par microondes (EAM). Les auteurs ont rapporté qu'il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en polyphénols totaux des extraits obtenus par les différentes méthodes d'extraction utilisées.

Il a aussi été observé qu'en extraction conventionnelle solide-liquide, les résultats ont montré l'impact du temps sur la vitesse d'extraction. Cette dernière a été importante durant les 2h30 min, puis a diminué progressivement, tandis qu'en EAU le temps optimum était de 45 min. Le temps de contact entre le solide et le solvant est donc un paramètre important pour l'extraction des polyphénols.

Mahdeb et al. (2021) ont constaté que l'utilisation des ultrasons dans l'extraction des composés phénoliques totaux de l'*O. ficus indica* a augmenté de manière significative le rendement avec une amélioration de 57 % par rapport à l'extraction conventionnelle solide-liquide, avec une réduction du temps d'extraction passant de 2h30 à seulement 30 min.

Nous déduisons que l'EAU permet un gain de temps et par conséquent d'énergie considérable par rapport à l'EC pour l'extraction des CPT. Bien que la température de 40 °C soit idéale pour l'extraction en EAU, on note que la valeur des CPT obtenue après 4h30 en EC à 25 °C ($12,96 \pm 0,02$ mg EAG/g MS) est quasiment la même obtenue après 45 min en EAU à 25 °C ($12,98 \pm 0,09$ mg EAG/g MS) (**Figure 18**).

L'EAU est une méthode bien adaptée pour l'extraction des polyphénols à partir de plantes (**Pradal et al., 2018**). Elle a été mise au point dans le but d'améliorer l'efficacité (sélectivité) et le rendement d'extraction ainsi de réduire le temps d'extraction (**Chemmat et al., 2011**). Plusieurs auteurs ont rapporté que l'extraction des composés bioactifs des fleurs avec l'EAU est efficace et utilise un temps d'extraction réduit par rapport aux techniques d'extraction conventionnelles (**Xu et al., 2017, Brahmi et al., 2022**).

Les méthodes d'extraction classiques sont associées à un effet économique. Elles consomment de l'énergie et ainsi augmentent le risque d'altération des composants thermosensibles (**Pradal et al., 2018 ; Spigno et al., 2007**). Cependant, certaines nouvelles méthodes d'extraction « éco-responsables », consomment généralement moins de solvant et d'énergie, et ont été décrites pour répondre à ces limitations (**Chemmat et al., 2012**).

IV.3.2. Comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux entre les deux méthodes d'extraction en fonction des différentes températures

Afin d'illustrer l'effet de la température en EAU sur le rendement d'extraction des FT par rapport à l'EC, les résultats des rendements en FT par EAU (éthanol à 20 %, temps d'extraction 45 min, température 25, 40, 60 et 70 °C) et des FT obtenus par extraction conventionnelle (EC) (éthanol à 20 %, température 25 °C, temps d'extraction 2h 30 min) sont comparés dans la Figure suivante :

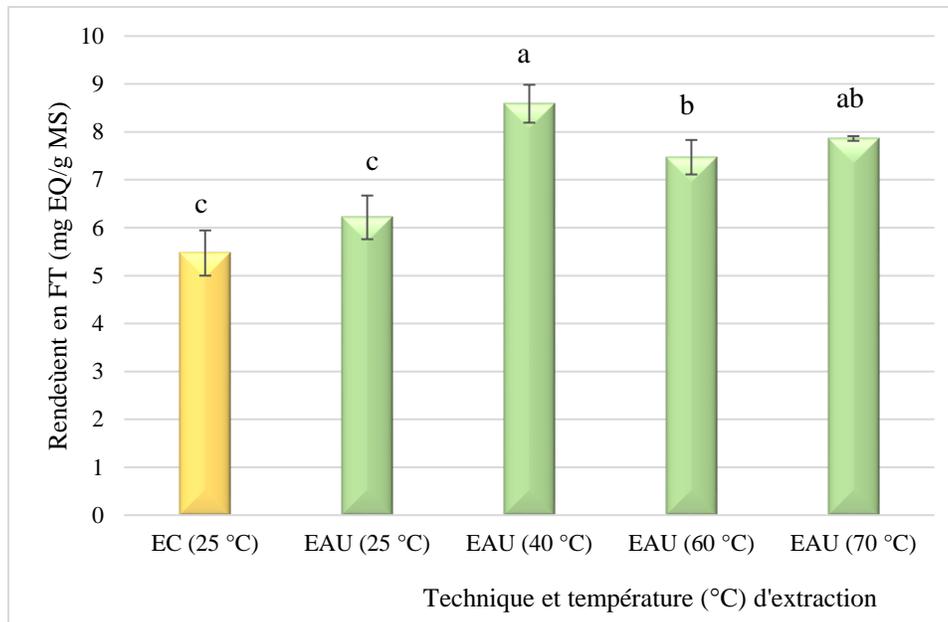


Figure 25 : Comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU après 45 min en fonction de différentes températures et teneurs des FT après 2h30 en extraction conventionnelle.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

Concernant les flavonoïdes totaux, l'utilisation des ultrasons après 45 min a donné de meilleurs résultats par rapport à l'EC. Nous avons noté la meilleure concentration en FT à 40 °C ($8,58 \pm 0,39$ mg EQ /g MS). Par conséquent, l'extraction conventionnelle a donné de faibles teneurs ($5,47 \pm 0,47$ mg EQ/g MS) après 2h30 d'extraction à 25°C. Les flavonoïdes font partie des composés phénoliques totaux des cladodes d'*OFI* et sont aussi extraits d'une manière plus efficace par ultrasons. L'augmentation de la température entraîne une augmentation du nombre de cavitations et de la surface de contact, ainsi qu'une diminution de la viscosité et de la densité du milieu solvant. Ces facteurs ont favorisé la libération des composés bioactifs du matériel végétal et la décomposition des cellules végétales, en augmentant les coefficients de solubilité et de diffusion (Wang et al., 2014).

Cependant, certains composés tels que les composés thermosensibles peuvent se dégrader lorsqu'ils sont exposés à des températures plus élevées pendant une période plus longue (Cacace et Mazza, 2003).

Toutefois, bien que les rendements et la sélectivité soient élevés, pour le développement d'un éco-procédé, le recours au chauffage est à limiter puisque la consommation d'énergie peut augmenter avec la température. Mais d'un autre côté, des températures atteignant 80 °C ont été utilisées pour l'extraction de contenu phénolique total (Tiho *et al.*, 2017). L'effet d'une température plus élevée sur l'augmentation du transfert de masse de composé bioactif surmonte l'effet d'une température plus élevée sur la dégradation des composés bioactifs entraînant un effet net d'augmentation du rendement (Kumar *et al.* 2021).

IV.3.3. Comparaison de la capacité antioxydante des extraits entre les deux méthodes d'extraction en fonction du temps et de la température

Les résultats des capacités antioxydantes obtenues par EAU (éthanol à 20%, temps d'extraction 45 min, températures 25, 40, 60 et 70 °C) et par extraction conventionnelle (éthanol à 20 %, température 25 °C, temps d'extraction 2h30, 3h30 et 4h30 min) sont illustrés dans la figure ci-dessous.

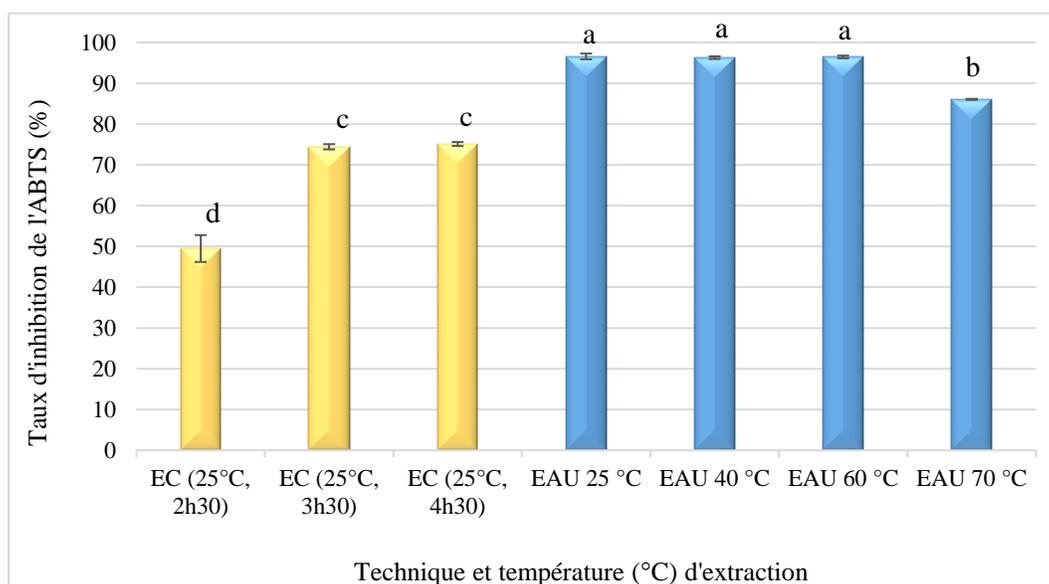


Figure 26 : Comparaison des taux d'inhibition de l'ABTS des extraits de cladode d'*OFI* obtenus par EAU réalisée après 45 min à différentes températures, et par EC réalisée à différents temps d'extraction et à 25°C.

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts types ($n = 3$).

L'histogramme illustré en **Figure 26** indique que tous les extraits d'*OFI* obtenus par les deux méthodes d'extraction (EC et EAU), présentent la capacité à piéger le radical ABTS+, mais

cette capacité est très accentuée en EAU. D'après les résultats obtenus dans le test à l'ABTS, nous remarquons que les extraits obtenus par EC montrent de faibles valeurs allant de $49,47 \pm 3,29$ à $75,11 \pm 0,47$ % entre 2h30 et 4h30, mais les extraits obtenus par EAU sont plus significatifs (allant de $96,58 \pm 0,70$ à $96,46 \pm 0,32$ % de 25 à 60°C) et chutent à 70 °C ($86,05 \pm 0,12$ %).

Le **Tableau VIII** montre les valeurs des capacités antioxydantes équivalentes au trolox (CAET) des extraits en fonction de la technique utilisées et de leurs caractéristiques respectives.

Tableau VIII : Capacités antioxydantes des extraits exprimées en équivalent trolox (CAET).

Techniques d'extraction	Temps (minute et heure)	Température (°C)	Résultat en $\mu\text{g CAET/g MS}$
EC	4h30	25 °C	$31331,25 \pm 645$ ^b
EAU	45 min	25 °C	$60231,45 \pm 948$ ^a
		40 °C	$59813,73 \pm 434$ ^a
		60 °C	$60064,36 \pm 434$ ^a
		70 °C	$30706,89 \pm 169$ ^b

Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Ces résultats correspondent aux taux d'inhibition obtenus en **Figure 25**. En effet, on observe que l'EC génère de faibles valeurs en activités antioxydantes ($31331,25 \pm 646$ $\mu\text{g CAET/g MS}$) après 4h30 d'extraction, par rapport à celles des extraits obtenus par EAU qui sont deux fois plus élevées après 45 min ($60231,45 \pm 948$, $59813,73 \pm 434$, et $60064,36 \pm 434$ $\mu\text{g CAET/g MS}$, à 25, 40 et 60 °C, respectivement), mais ces valeurs diminuent à la température de 70 °C ($30706,89 \pm 169$ $\mu\text{g CAET/g MS}$). Il est à noter que celles-ci sont significativement différentes, ce qui nous amène à dire que la technique de l'EAU est plus efficace en tenant compte du temps d'extraction.

Brahmi et al. (2022a) ont rapporté que l'EAU est une méthode d'extraction plus efficace pour la récupération des antioxydants des fleurs de l'OFI avec un temps plus court, un rendement phénolique plus élevé et une température réduite. **Mahdeb et al. (2021)** ont rapporté des chiffres de 2313 et 2505 $\mu\text{g CAET/g MS}$ pour les activités antioxydantes de l'OFI de Béjaia et de Souk Ahras, respectivement.

A partir de ces comparaisons nous pouvons dire que l'extraction assistée par ultrasons (EAU) améliore les rendements des CPT, des FT, et de l'activité antioxydante par rapport à ceux de l'extraction conventionnelle (EC) tout en permettant un gain de temps considérable.

Conclusion

Conclusion

Dans un contexte général de valorisation des plantes poussant en Algérie, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'espèce du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*) qui appartient à la famille des cactacées et qui est présente sur tout le pourtour du bassin méditerranéen.

Ce travail avait pour objectif d'extraire des composés phénoliques des cladodes du figuier de Barbarie de l'espèce *Opuntia ficus-indica*, provenant de la wilaya de Souk Ahras, par deux techniques différentes : l'extraction conventionnelle solide-liquide (EC) et l'extraction assistée par ultrasons (UAE). Ainsi l'étude des effets des principaux paramètres opératoires sur l'extraction des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et de l'activité antioxydante des extraits obtenus a été effectuée.

Le procédé d'extraction solide-liquide utilisant un solvant mélange éthanol-eau à 20 % s'est montré efficace pour la récupération des polyphénols. Les résultats obtenus montrent que l'extrait obtenu par l'extraction assistée par ultrasons a présenté le meilleur rendement ($14,54 \pm 0,13$ mg EAG/g MS) à 45 min d'extraction, tandis que l'extrait éthanolique obtenu par extraction conventionnelle solide-liquide a donné des valeurs plus faibles ($13,53 \pm 0,70$ mg EAG/g de MS après 2h30 d'extraction et 12,96 après 4h30 d'extraction).

L'extraction assistée par ultrasons a montré son efficacité pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des cladodes d *Opuntia ficus-indica*. La composition du solvant, le temps, la température se sont révélés être des paramètres influents l'extraction, nous remarquons que l'effet de la température est le plus significatif en l'EAU. La sonication permet d'améliorer le rendement, de réduire le temps et l'énergie consommés durant l'opération par l'extraction conventionnelle.

En parallèle, la quantification des flavonoïdes nous a permis d'observer également des teneurs élevées dans l'extrait obtenu par EAU ($8,58 \pm 0,39$ mg EQ/g MS) après 45 min d'extraction, tandis qu'en EC on note la valeur de $5,47 \pm 0,47$ mg EQ/g MS après 2h30 d'extraction, et $6,07 \pm 0,01$ mg EQ/g MS après 4h30.

Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant par la capacité de piégeage du radical ABTS. Nous avons constaté que l'extrait de la poudre de cladode d'*Opuntia ficus-indica* pourrait être caractérisé par une forte capacité de réduire le radical libre de l'ABTS (dans les 96 %) obtenue par EAU après 45 min d'extraction entre 25 à 60 °C, contrairement à la valeur obtenue par EC ($75,11 \pm 0,47$ % après 4h30 d'extraction).

Conclusion

Pour conclure, Il y a donc une amélioration des rendements des CPT et des FT qui se traduit par une amélioration de l'activité antioxydante après EAU. On peut dire que l'*Opuntia ficus indica* de la région de Souk-Ahras (Sidi fredj) est riche en phénols notamment en flavonoïdes, qui semblent avoir des propriétés antioxydantes.

Cela, dit, ce travail ouvre des perspectives et des pistes de recherche, tant au niveau de la connaissance scientifique, qu'à celui d'une possibilité de valorisation de la matière végétale de notre pays. D'autres études complémentaires pourront être envisagées :

- Isoler et caractériser l'entité active (biomolécules) pour déterminer, d'une part les composés des raquettes d'*Opuntia ficus-indica* (notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques) qui peuvent être responsables des effets antioxydants par des techniques d'analyse avancées (HPLC, RMN...etc)
- Il serait intéressant d'étudier d'autres paramètres opératoires sur l'extraction des polyphénols totaux et l'activité antioxydante des extraits obtenus à partir de cladode d'*Opuntia ficus-indica* tel que le pH, le ratio (matière sèche/solvant), effet de la taille des particules... afin d'obtenir une plus grande solubilité des polyphénols et de limiter les effets de dégradation qui pourraient intervenir.
- Il serait intéressant d'utiliser d'autres techniques d'extraction qui pourraient éventuellement être plus rentables.
- Evaluation des activités biologiques (activité antioxydante par d'autres tests, activité antimicrobienne,) et identification des composants actifs responsables de ces activités.
- Utilisation de la poudre de cladode d'*Opuntia ficus-indica* en tant que nouveaux antioxydants naturels pour un enrichissement des aliments fonctionnels tel que les jus de fruits, les yaourts, les farines... ou les médicaments, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention de plusieurs maladies telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires.
- Exploiter les extraits obtenus pour remplacer les additifs synthétiques (antioxydants et colorants) dans l'industrie agro-alimentaire.

Références
Bibliographiques

A

Abascal K., & Yarnell E. (2000). A Review of Prickly Pear: The Upscale Medicinal Food. *Alternative and Complementary Therapies*, 6 : 265–271.

Achat S. (2013). *Polyphénols de l'alimentation* : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat en chimie, Université de conse-pascal paoli, 211p

Adjeroud-Abdellatif N., Hammoui Y., Boudria A., Agab S., Choulak, F., Leclerc J.-P., Merzouk] B., Madani] K. (2020). Effect of a natural coagulant extract from *Opuntia ficus-indica* cladode on electrocoagulation-electroflotation water treatment process. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1–25.

Adli B., Boutekrabt A., Touati M., Bakria T., Touati A., Bezini E. (2017). Phenotypic diversity of *Opuntia ficus indica* (L.) MILL. in the Algerian steppe. *South African Journal of Botany*, 66–74.

Alane A., Zembouai I., Benhamida A., Zaidi L., Touati N., Kaci M. (2022). Fibres d'*Opuntia ficus indica* comme renfort dans les biocomposites de PHBV. *Materials Today: Proceedings*, 218–222.

Albergamo A., Potortí A.G., Di Bella G., Amor N.B., Lo Vecchio G., Nava V., Rando R., Ben Mansour H., Lo Turco V. (2022). Chemical Characterization of Different Products from the Tunisian *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. *Foods*, 11: 155.

Alkurd A., Hamed T. R., Al-Sayyed H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4: 265 - 274.

Anderson E.F. & Brown R. (2001). *The cactus family*. Timber Press: Portland

Angulo-Bejarano P.I., Martínez-Cruz O., Paredes-Lopez O. (2014). Phytochemical Content, Nutraceutical Potential and Biotechnological Applications of an Ancient Mexican Plant: Nopal (*Opuntia ficus-indica*). *Current Nutrition & Food Science*, 10: 196–217.

Aragona M., Lauriano E.R., Pergolizzi S., Faggio C.J.N.P.R. (2018). *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller as a source of bioactivity compounds for health and nutrition. *Natural Product Research*, 32: 2037–2049

Astello-García M.G., Ilse C., Nair V., del Socorro Santos-Díaz M., Reyes-Agüero A., Guéraud F., Negre-Salvayre A., Rossignol M., Cisneros-Zevallos, L., Barba de la Rosa A.P. (2015). Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia spp.* cultivars with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43: 119–130.

Azmir J., Zaidul I. S. M., Rahman M. M., Sharif K. M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A Ghafoor K., Norulaini N.A.N., Omar A. K. M. (2013). *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review*. *Journal of Food Engineering*, 117: 426–436.

B

Banik R.M. & Pandey D. K. (2008). Optimizing conditions for oleanolic acid extraction from *Lantana camara* roots using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 27: 241–248.

Brahmi F., Blando F., Sellami R., Mehdi S., De Bellis L., Negro C., Haddadi-Guemghar H., Madani K., Makhlouf-Boulekbache L. (2022). Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures. *Industrial Crops & Products*, 184: 114-977.

Brahmi F., Mateos-Aparicio I., Garcia-Alonso A., Abaci N., Saoudi S., Smail-Benazzouz L., Guemghar-Haddadi H., Madani K., Boulekbache-Makhlouf L. (2022). Optimization of Conventional Extraction Parameters for Recovering Phenolic Compounds from Potato (*Solanum tuberosum* L.) Peels and Their Application as an Antioxidant in Yogurt Formulation. *Antioxidants*, 11: 1401.

Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.

C

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

Cakir A., Mavi A., Yıldırım A., Duru M. E., Harmandar M., Kazaz C. (2003). Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*, 87: 73–83.

Chemat F., Rombaut N., Sicaire A. G., Meullemiestre A., Fabiano-Tixier A. S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. In *Ultrasonics sonochemistry*, 540-560.

Chemat F., Vian M. A., Cravotto G. (2012). Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 8615–8627.

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

Clifford M.N. (1999). *Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea*. Washington, DC, CRC Press: Boca Raton Florida; 393-397.

D

D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*, 348-361.

Dahmoune F., Boulekbache L., Moussi K., Aoun O., Spigno G., Madani K. (2013). Valorization of *Citrus limon* residues for the recovery of antioxidants: Evaluation and

optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 50: 77–87.

Dawidowicz A. L., & Olszowy M. (2011). Antioxidant properties of BHT estimated by ABTS assay in systems differing in pH or metal ion or water concentration. *European Food Research and Technology*, 232:837–842.

De Santiago E., Juániz I., Cid C., De Peña M.P. (2021). Extraction of (Poly)phenolic Compounds of Cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) Cladodes. *Food Analytical Methods*, 14: 1167–1175.

Dent M., Dragović-Uzelac V., Mladen Brncić M.P, Bosiljkov T., Levaj B. (2013). The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts. *Food Technol, Biotechnol*, 51: 84–91.

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

E

El-Hawary S.S., Sobeh M., Badr W.K., Abdelfattah M.A.O., Ali Z.Y., El-Tantawy M.E., Rabeh M.A., Wink M. (2020). HPLC-PDA-MS/MS profiling of secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* cladode, peel and fruit pulp extracts and their antioxidant, neuroprotective effect in rats with aluminum chloride induced neurotoxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27: 2829–2838.

El-Mostafa K., El Kharrassi Y., Badreddine A., Andreoletti P., Vamecq J M'Hammed ., El Kebbaj S., Latruffe N., Lizard G., Nasser B ., Cherkaoui-Malki M.(2014). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. *Molecules*, 19: 14879–14901.

F

Felkai-Haddache L., Remini H., Dulong V., Mamou-Belhabib K., Picton L., Madani K., Rihouey C. (2016). Conventional and Microwave-Assisted Extraction of Mucilage from *Opuntia ficus-indica* Cladodes: Physico-Chemical and Rheological Properties. *Food and Bioprocess Technology*, 9: 481–492.

G

Georgé S., Brat P., Alter, P., Amiot J.M. (2005). Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53: 1370-1373.

Giglio R. V., Carruba G., Cicero A. F. G., Banach M., Patti A. M., Nikolic D., Rizzo M. (2020). Pasta Supplemented with *Opuntia ficus-indica* Extract Improves Metabolic Parameters and Reduces Atherogenic Small Dense Low-Density Lipoproteins in Patients with Risk Factors for the Metabolic Syndrome: A Four-Week Intervention Study. *Metabolites*, 10 : 428.

González Sandoval D. C., Luna Sosa B., Martínez-Ávila G. C. G., Rodríguez Fuentes H., Avendaño Abarc, V. H., & Rojas R. (2019). Formulation and Characterization of Edible Films Based on Organic Mucilage from Mexican *Opuntia ficus-indica*. *Coatings*, 9 : 506.

H

Halmi S. (2015). *Etude botanique et phytochimique, approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus indica*, en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en science Option Biotechnologie végétale. Université Des Frères Mentouri De Constantine.185p

Harborne J.B. (1999). *Chemicals from plants d perspectives on plant secondary products*. Imperial College Press : London, UK. p 425.

Harrat N. E. (2020). *Contribution à l'étude des propriétés hypoglycémiantes, hypolipémiantes et antioxydantes du nopalitos de l'Opuntia ficus indica au cours du diabète de type 2, chez le rat*. Thèse de Doctorat, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella.p 96

Hatano T., Kusuda M., Inada K., Ogawa T.O., Shiota S., Tsuchiya T., Yoshida T. (2005). Effects of tannins and related polyphenols on methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 66 : 2047-2055.

I

Ighami A., Ghanbarzadeh S., Hamishehkar H. (2015). Optimization of the ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds, ferric reducing activity and antioxidant activity of the *Beta vulgaris* using response surface methodology. *Pharmaceutical Sciences*, 21 : 46-50

Inglese P., Mondragon C., Nefzaoui A., Sáenz C. (2018). *Ecologie, culture et utilisations du figuier de barbarie*. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et le Centre International pour la Recherche Agricole dans les Zones Arides : Rome. pp. 208.

K

Khouchlaa A., Talbaoui A., El Idrissi A.E.Y., Bouyahya A., Lahsen S.A., Kahouadji A, Tijane M. (2018). Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie*, 16:14-9.

King A. & Young G. (1999). Characteristics and Occurrence of Phenolic Phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, 99: 213-218.

Kumar K., Srivastav S., Sharanagat V.S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products. *Ultrasonic Sonochemistry*, 70: 105-325

Kumar K., Srivastav S., Sharanagat V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products. *Ultrasonics – Sonochemistry*, 70 : 105-325.

L

Lagnika L. (2005). *Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises.* Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur. Strasbourg, 249 p.

Louacini B.K., Dellal A., Halbouche M., Ghaza K. (2012). Effect of Incorporation of the Spineless *Opuntia ficus Indica* in Diets on Biochemical Parameters and its Impact on the Average Weight of Ewes During the Maintenance. *Global Veterinaria*, 8: 352-359.

M

Mahdeb A., Adjeroud-Abdellatif N., Mazari A., Portillo L., Ait Abdelouhab K., Ait Maamer A., Madani K.(2021). Identification of some *Opuntia* spp. from two Algerian regions and ultrasound assisted extraction of their phenolic compounds. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 23: 94-120.

Malainine ME., Dufresne A., Dupeyre D., Mahrouz M., Vuong R., Vignon MR. (2001). Structure et morphologie des raquettes et des epines du figuier de barbarie. *Physical Chemistry News*, 126-130.

Mariod A. A. (2019). *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products.* Springer Nature: Switzerland.

Mohammedi Z., & Atik F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2: 609–615.

Moussaoui B., Rahali A., Hamed D., Guemou L., Riazi A. (2022). Antioxidant and cytotoxic activities of alkaloids extracted from inermis nopals of Algerian *Opuntia ficus-indica* (L). *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 105-231.

N

Nabil B., Ouaabou R., Ouhammou M., Essaadouni L., Mahrouz M. (2020). Functional Properties, Antioxidant Activity, and Organoleptic Quality of Novel Biscuit Produced by Moroccan Cladode Flour “*Opuntia ficus-indica*.”. *Journal of Food Quality*, 1–12.

Nedjimi B. (2021). Determination of Some Major and Trace Elements in Cladodes of Barbary fig (*Opuntia ficus-indica* Mill.) by X-ray Fluorescence Spectrometry. *Biological Trace Element Research*, 199: 4353–4359.

Neffar S. (2012). *Etude de l'effet de l'âge des plantations de figuier de Barbarie (Opuntia ficus indica L. Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des steppes Algériennes de l'Est : Cas de Souk-ahras et Tébessa,* Thèse de Doctort Université Badji Mokhtar, Annaba. pp. 132

Nguyen-Kim M.T., Truong Q.C, Nguyen M.T., Cao-Thi B.H., Tong T.D., Dao T.P., Tran T.H., Tan L.V., Le X.T. (2021). Optimized extraction of polyphenols from leaves of Rosemary

(*Rosmarinus officinalis L.*) grown in Lam Dong province, Vietnam, and evaluation of their antioxidant capacity. De Gruyter, *Open Chemistry* .19: 1043–1051.

Nićiforović N. & Abramović H. (2014). Sinapic acid and its derivatives: natural sources and bioactivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.13: 34-51.

O

Ochoa M.J., Barbera G. (2017). *FAO Crop Ecology Cultivation and Uses Cactus Pear*. FAO, Rome. 1–11.

Ong E. S. (2004). Extraction methods and chemical standardization of botanicals and herbal preparations. *Journal of Chromatography B*, 812: 23–33.

Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamnadass R., Anthony S. (2009). Agroforestry Database: atree reference and selection guide version 4.0.

P

Perucini-Avenidaño M., Nicolás-García M., Jiménez-Martínez C., Perea-Flores M.J., Gómez-Patiño M. B., Arrieta-Báez D., Dávila-Ortiz G. (2021). Cladodes: Chemical and structural properties, biological activity, and polyphenols profile. *Food Science & Nutrition*, 9: 4007–4017.

Pradal D., Vauchel P., Decossin, S., Dhulster P., Dimitrov K. (2018). Integrated extraction-adsorption process for selective recovery of antioxidant phenolics from food industry by-product. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 127: 83–92.

R

Ramadan M. F., Moussa Ayoub T. E., Rohn S. (2021). *Opuntia spp.: Chemistry, Bioactivity and Industrial Applications*. Springer Nature: Switzerland AG.1045p.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Panala A., Yanh M., ET Rice-Evans C. (1999). Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237.

Redoyal L.M., Beltram M., Saucho R., Olmedo D.A. (2005). Bioorganic and medicinal chemistry Letters. *Fitoterapia*, 15: 4447-4450.

Reyes-Agüero A.J., Rogelio Aguirre-Rivera J., Héctor M., Hernández. (2005). Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) MILL. (Cactaceae). *Agrociencia*, 395-408.

Rice-Evans C.A., Miller N.J., Blwell P.G., Bramley P.M. and Pridham J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22: 375–383.

Rodríguez De Luna S. L., Ramírez-Garza R. E., Serna Saldívar S. O. (2020). Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *The Scientific World Journal*, 1–38.

S

Sengar A. S., Rawson A., Muthiah M., Kumar Kalakanda, S. (2019). Comparison of different ultrasound assisted extraction techniques for pectin from tomato processing waste. *Ultrasonics Sonochemistry*, 104812.

Silva M. A., Albuquerque T. G., Pereira P., Ramalho R., Vicente F., Oliveira M. B. P. P., Costa H. S. (2021). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. A Multi-Benefit Potential to Be Exploited. *Molecules*, 26: 951.

Silva E., Rogez H., Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55: 381–387.

Spigno, G., Tramelli, L., & De 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.

Syed Jaapar S. Z., Morad N. A., Iwai Y., Nordin M. F. M. (2017). Effects of processing parameters in the sonic assisted water extraction (SAWE) of 6-gingerol. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38 : 62–74.

T

Taleb H. (2016). *Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols par micro-ondes et ultrasons des feuilles de Foeniculum vulgare par la méthodologie de surface réponse.* En vue de l'obtention du Diplôme Magister, Université Abderrahmane Mira De Bejaia, 91p.

Teng H., Lee W. Y., Choi Y. H. (2014). Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Polyphenols, Anthocyanins, and Antioxidants from Raspberry (*Rubus coreanus* Miq.) Using Response Surface Methodology. *Food Analytical Methods*, 7: 1536–1545.

Tiho T., Yao J. C. N., Brou C. Y., Adima A. A. (2017). Drying Temperature Effect on Total Phenols and Flavonoids Content, and Antioxidant Activity of *Borassus aethiopum* Mart Ripe Fruits' Pulp. *Journal of Food Research*, 6: 50.

Tsimogiannis, D. I., & Oreopoulou, V. (2006). The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3',4'-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7: 140–146.

V

Venkateswara Rao M., Singh Sengar A., Sunil C. K., Rawson A. (2021). Ultrasonication - A green technology extraction technique for spices. *Trends in Food Science & Technology*, 116: 975–991.

Vicidomini C., Roviello V., & Roviello G. N. (2021). In Silico Investigation on the Interaction of Chiral Phytochemicals from *Opuntia ficus-indica* with SARS-CoV-2 Mpro. *Symmetry*, 13: 1041.

Vural N., Algan Cavuldak Ö., Anlı, R. E. (2018). Multi response optimisation of polyphenol extraction conditions from grape seeds by using ultrasound assisted extraction (UAE). *Separation Science and Technology*, 53: 1540–1551.

W

Wang C., Li Y., Yao L., Wu G., Chang J., Shu C., Chen M. (2014). Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Flavonoid from *Portulaca oleracea* L. by Response Surface Methodology and Chemical Composition Analysis. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57: 647–653.

X

Xu D.-P., Zheng J., Zhou Y., Li Y., Li S., Li H.-B. (2017). Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chemistry*, 217: 552–559.

Y

Yahia E.M., & Saenz C. (2011). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. Elsevier: Amsterdam, 290–331.

Yang L., Jiang J.-G., Li W.-F., Chen J., Wang D.-Y., Zhu L. (2009). Optimum extraction Process of polyphenols from the bark of *Phyllanthus emblica* L. based on the response surface methodology. *Journal of Separation Science*, 32: 1437–1444.

Z

Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li, Y., Shan L., Lin Y., Fan W., Gu G. (2006). Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7277–7286.

Zhou K., & Yu L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT - Food Science and Technology*, 37: 717–721.

Zia S., Khan, M. R., Shabbir M. A., Aslam Maan A., Khan M. K. I., Nadeem M., Khalil A. A., Din A., Aadil R. M. (2020). An Inclusive Overview of Advanced Thermal and Nonthermal Extraction Techniques for Bioactive Compounds in Food and Food-related Matrices. *Food Reviews International*, 1–31.

Webographie:

Anonyme 1: Huffpost Algeria. (2015). La figue de Barbarie, un fruit venu d'ailleurs devenu produit du terroir en Algérie. http://www.huffpostmaghreb.com/2015/08/04/n_7932698.html.

Annexes

Annexes

Annexe I : Appareillage et logiciel utilisés :

- Bain à Ultrasons (BRASONIC-UI Trasonic cleaner, Mexique).
- Bain marie (Memmert).
- Balance analytique (RADWG, Algérie).
- Centrifugeuse (Benchtop low speed).
- Etuve (MMM Medcenter Ecocell).
- JMP pour analyses statistiques.
- Plaque agitatrice (VELP Scientifica, France).
- Réfrigérateur.
- Spectrophotomètre UV-Visible de marque : Shimadzu Corporation
- Vortex (VELP Scientifica, France).

Annexe II : Produits chimiques et réactifs

- ABTS (L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
- Acide gallique.
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
- Chlorure d'aluminium (AlCl_3).
- Ethanol (96 %).
- Persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$).
- Quercétine.
- Réactif de Folin-Ciocalteu.
- Trolox.

Annexe III : Courbes d'étalonnage

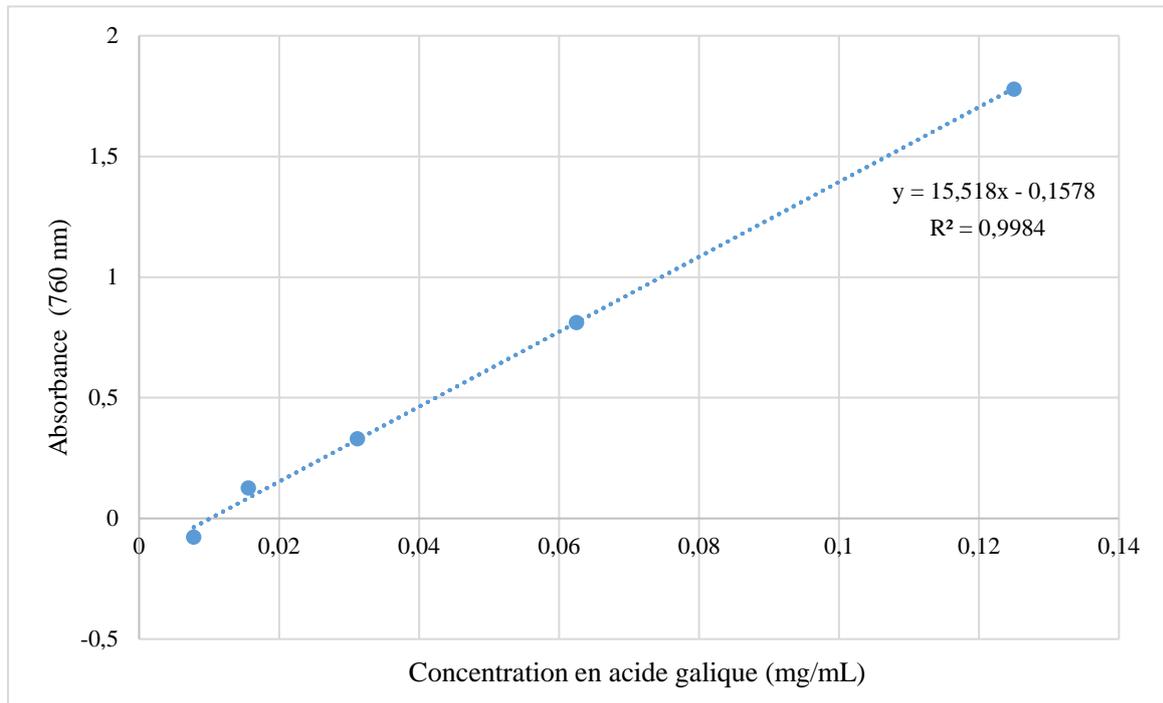


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

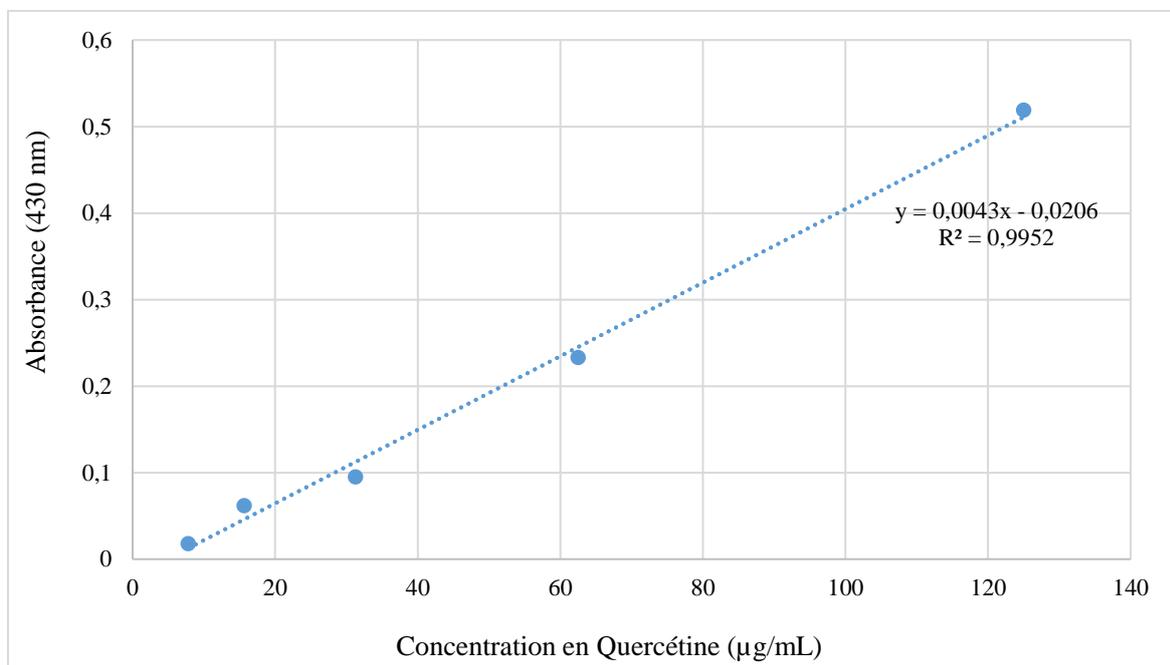


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

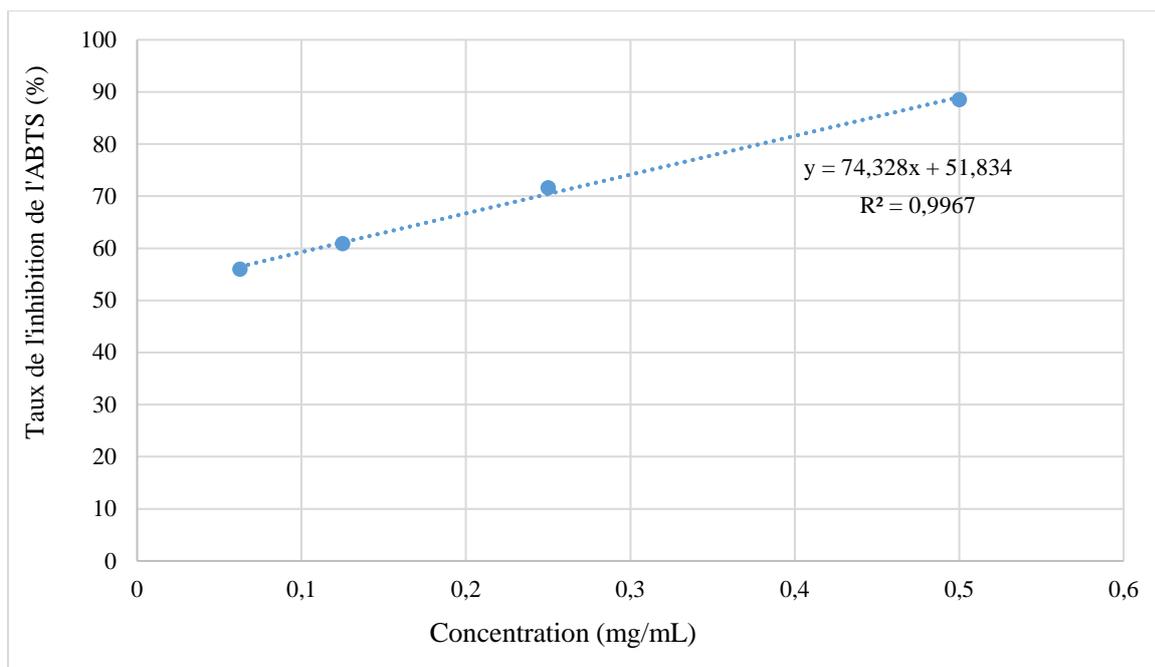


Figure 3 : Courbe d'étalonnage du Trolox

Annexe IV : Courbes de corrélation

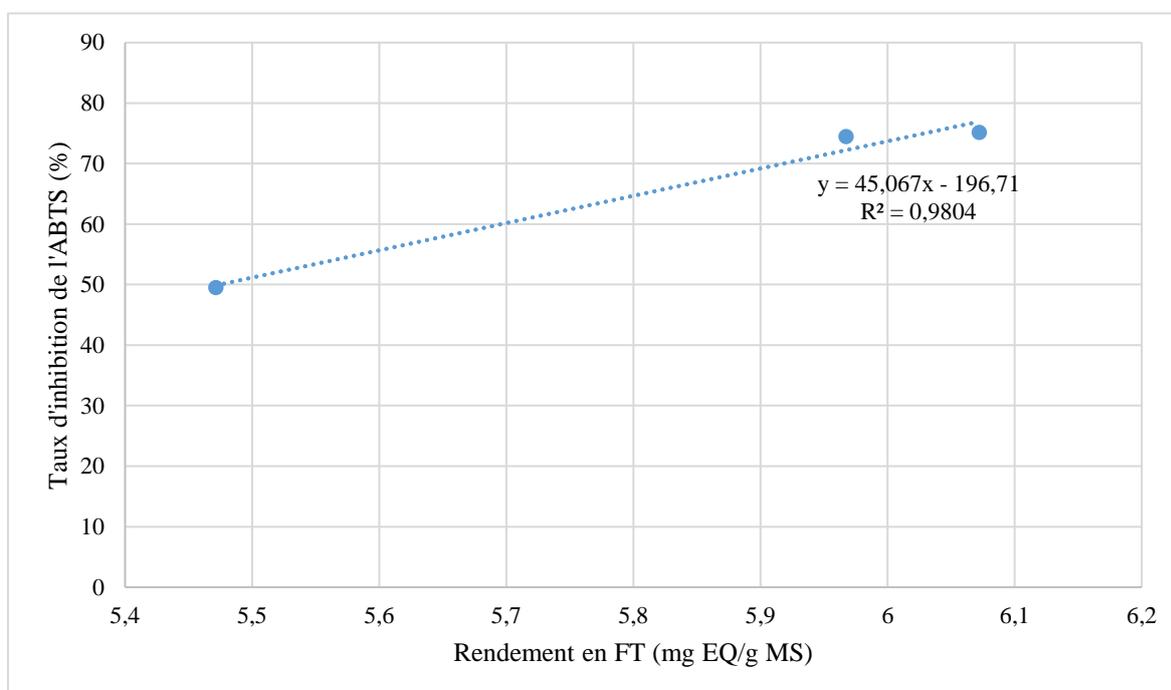


Figure 5 : Courbe de corrélation entre la teneur en flavonoïdes totaux (FT) et l'activité antioxydante en extraction conventionnelle (EC) à différents temps d'extraction (2h30, 3h30, et 4h30).

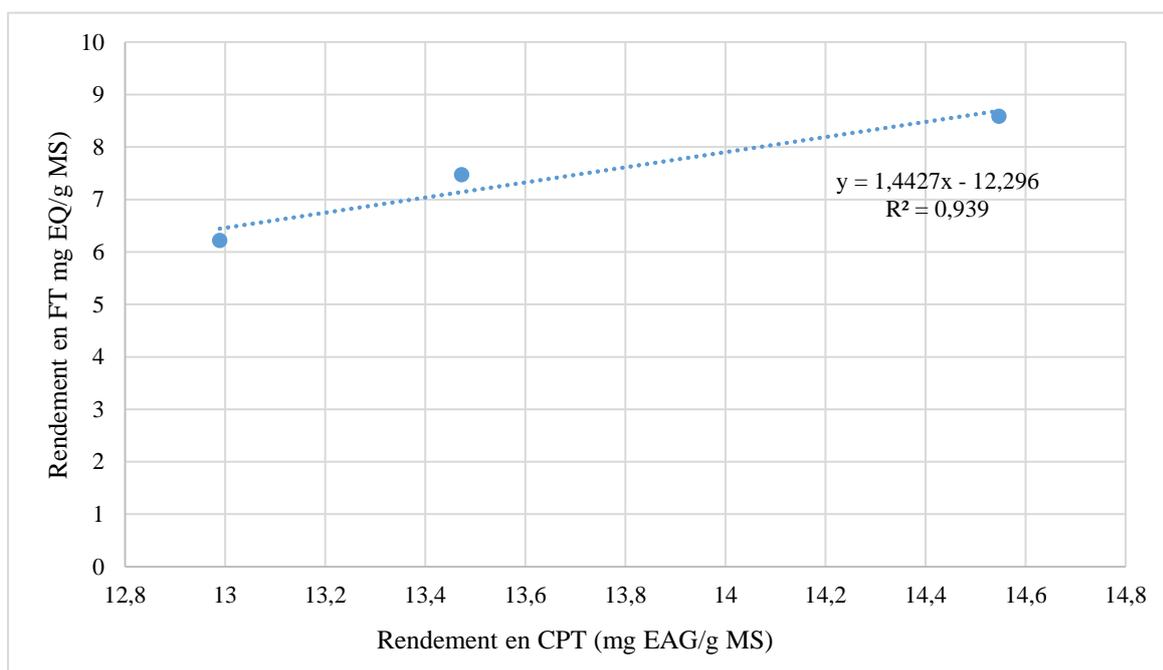


Figure 5 : Courbe de corrélation entre la teneur des composés phénoliques totaux (CPT) et les flavonoïdes totaux (FT) en extraction assistée par Ultrasons (EAU) à différentes températures (25°C à 60 C°).

Résumé

Le Figuier de Barbarie ou *Opuntia ficus indica* (*OFI*), est une plante très présente en Algérie et en importantes quantités. Les cladodes d'*OFI* ont attiré une grande attention dans les agro-industries pour ses avantages agronomiques, médicaux et environnementaux. Les études réalisées sur les extraits naturels issus des cladodes révèlent leur richesse en métabolites secondaires (polyphénols et flavonoïdes). Dans ce contexte, ce travail consiste, à extraire les composés phénoliques des cladodes d'*OFI* issus de la région Souk-Ahras, étudier l'efficacité de deux méthodes d'extraction (Extraction conventionnelle (EC), et extraction assistée par ultrasons (EAU) en termes de teneurs en composés phénoliques totaux (CPT), en flavonoïdes totaux (FT), en activité antioxydante des extraits, et d'examiner l'effet des conditions opératoires d'extraction (concentration en éthanol, temps, et température). Le dosage quantitatif a révélé la richesse des cladodes d'*Opuntia ficus indica* en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes). Les résultats de l'extraction révèlent que les rendements les plus élevés en CPT ($14,54 \pm 0,13$ mg EAG/g MS), en FT ($8,58 \pm 0,39$ mg EQ/g MS), et en activité antioxydante (taux d'inhibition de 96,27 %) sont obtenus par l'EAU sous les conditions optimales suivantes : éthanol à 20 %, temps d'extraction de 45 min, et température de 40°C, contrairement à l'EC qui a donné des teneurs plus faibles en CPT ($12,96 \pm 0,02$ mg EAG/g MS) après 4h30 d'extraction. Globalement, l'EAU s'est révélée meilleure que la méthode d'EC ayant permis des rendements d'extraction plus importants et un gain de temps considérable.

Mots-clés : *Opuntia ficus indica*, extraction conventionnelle, extraction assistée par ultrasons, composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux, activité antioxydante.

Abstract

The prickly pear or *Opuntia ficus indica* (*OFI*), is a widespread plant in Algeria in large quantities. The cladodes of *OFI* have attracted great attention in agro-industries for their agronomic, medicinal and environmental benefits. Studies conducted on natural extracts from cladodes reveal their richness in secondary metabolites (polyphenols and flavonoids). In this context, this work concerns the extraction of phenolic compounds from *OFI* cladodes of the Souk-Ahras region, to study the efficiency of two extraction methods (conventional extraction (CE), and ultrasound-assisted extraction (UAE)) in terms of total polyphenolic contents (TPC), total flavonoids (TF), antioxidant activity of the extracts, and to examine the effect of the extraction operating conditions (ethanol concentration, time, and temperature). The quantitative assay revealed the *Opuntia ficus indica* cladodes richness in secondary metabolites (polyphenols, flavonoids). The extraction results reveal that the highest yields of TPC (14.54 ± 0.13 mg GAE/g DW), TF (8.58 ± 0.39 mg QE/g DW), and antioxidant activity (inhibition rate of 96.27 %) are obtained by UAE under the following optimal conditions: 20% ethanol, extraction time of 45 min, and temperature of 40°C, unlike EC which gave lower TPC contents (12.96 ± 0.02 mg EAG/g DW) after 4h30 of extraction. Overall, the UAE was found to be better than the EC method, allowing higher extraction yields and a considerable time saving.

Key-words: *Opuntia ficus indica*, conventional extraction, ultrasound-assisted extraction, total phenolic contents, total flavonoids, antioxidant activity.