

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

**Étude des polyphénols totaux des cladodes du
figuier de Barbarie :**
**Optimisation de l'extraction et comparaison des teneurs
entre différentes espèces de différentes régions**

Présenté par :

AIT MAAMAR Dounia & AIT ABDELOUAHAB kamilia

Soutenu le : 1^{er} Juillet 2019

Devant le jury composé de :

Mme. BOULEKBACHE-MAKHOULF L.	Professeur, Univ. Béjaïa	Président
Mme. GUEMGHAR-HADDADI H.	MCA, Univ. Béjaïa	Examineur
M. MAHDEB A.	Chargé d'études (INRAA, Béjaïa)	Invité
Mme. ADJEROUD-ABDELLATIF N.	MCB, Univ. Béjaïa	Encadreur

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier le bon Dieu, le tout puissant miséricordieux de nous avoir donné la santé, la patience, et la volonté pour achever ce modeste travail.

Nos très chaleureux remerciements vont à Mme ADJEROUD N. pour avoir accepté de nous encadrer, pour la confiance qu'elle nous a accordée, pour son aide et ses conseils, mais également pour nous avoir encouragées. Merci pour votre sympathie, votre patience, et votre gentillesse.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme BOULKBECHE L. pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Mm GUEMGHAR H. pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner notre travail de mémoire.

Nous tenons à remercier Mr AMOKRANE M. pour avoir contribué en partie à ce travail et pour ses orientations, et surtout à toute l'équipe du laboratoire BBBS pour leur aide et pour l'ambiance chaleureuse qu'ils ont assuré au sein du laboratoire

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Merci Allah de m'avoir donné le courage et la santé pour finaliser ce travail.

En signe de respect et de reconnaissance

Je dédie ce modeste travail ;

A MA Très CHÈRE MÈRE : Autant de phrase aussi expressive soient elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Tu as toujours été présente à mes coté pour me consoler quand il le fallait. En ce jour mémorable pour moi et pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Que dieu te procure santé, bonheur et longue vie.

A MON CHÈRE PÈRE : qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide, à me protéger, que ce travail puisse être le résultat de tes efforts et de tes sacrifices, et que dieu te procure santé, bonheur et longue vie.

*A Ma Très Chère sœur **Sadjia** , que j'aime beaucoup.*

*A MES CHÈRES FRÈRES **Riad** et **Walid** auxquels je souhaite tout le bonheur du monde.*

A Toute ma famille. Et A Toutes mes amies.

*A mes très chères copines **Lylly** et **Rym***

*A ma tendre **Sissi**, pour son aide son amour et son soutien, et à laquelle je souhaite une très bonne continuité et de réussite dans la vie.*

*Je termine avec ma très chère copine et binôme ; adorable ma puce **Dounia**.*

*A ceux que j'aime et qui me sont chers. Je vous dis **Merci**.*

Kamilia

Dédicace !

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience et la foi d'aller jusqu'au bout du parcours.

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer ce que je leur dois, pour leur bienveillance, leur affection et leur soutien, trésors de bonté, de générosité et de tendresse, en témoignage de mon profond amour et ma grande reconnaissance «Que Dieu vous garde »

A mes chers frères et sœurs, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A tous mes amis, tout en leur souhaitant la réussite dans tout ce qu'ils entreprennent.

Dans cette perspective, je voudrais réserver une place spéciale à ma chère Celia Idder, qui a laissé son empreinte dans tous mes projets pour ses encouragements infinis.

Je tiens à remercier vivement ma meilleure amie Rima avec qui j'ai vécu tellement d'aventures pour sa présence dans les moments de joie et de désespoir.

Je termine avec celle qui m'accompagné tout au long de mon parcours universitaire, ma binôme, ma meilleure amie pour sa compréhension et sa gentillesse.

Je souhaite que l'amitié que nous a réuni persiste pour toujours et que nous arrivons à réaliser nos rêves

A tous ceux que j'aime et qui me sont chers...je vous dis : MERCI !

Dounia

Liste des abréviations

ABTS	2,2'-Azino-Bis(3-ethylbenzoThiazoline-6-Sulphonic acid)
AK	Akbou
ANOVA	Analyse de la Variance
AZ	Amizour
CAET	Capacité Anti-oxydante Equivalente au Trolox
CPT	Composés Phénoliques Totaux
EAU	Extraction Assistée par Ultrasons
EAG	Equivalent en Acide Gallique
EQ	Equivalent en Quercétine
FT	Flavonoïdes Totaux
g	gramme
IRTF	Infrarouge Transformée de Fourier
Kbr	Bromure de potassium
Khz	Kilohertz
L.	Linné (<i>Carl Von Linné</i>)
Mill	Miller (<i>Philip Miller</i>)
mL	Millilitre
MS	Matière sèche
OFI	<i>Opuntia ficus indica</i>
OG	Oued-ghir
OM	<i>Opuntia megacantha</i>
OA	<i>Opuntia amyclae</i>
rpm	rotation par minute
US	Ultrasons
UV	Ultra-violet

Liste de Figures

N° de la Figure	Légende	N° Page
1	Distribution géographique du figuier de Barbarie.	3
2	Trois espèces du figuier de Barbarie appartenant au genre <i>Opuntia</i> : (a) <i>Opuntia ficus indica</i> (inerte), (b) <i>Opuntia megacanta</i> (épineuse), et (c) <i>Opuntia amyclae</i> (épineuse)	4
3	Présentation des différentes parties du cactus : (a) la plante, (b) les raquettes, (c) les fleurs, et (d) le fruit.	5
4	Squelette carboné de base des flavonoïdes.	12
5	Représentation schématique de l'extraction solide-liquide sous agitation.	16
6	Représentation schématique du phénomène de cavitation.	18
7	Représentation graphique de l'effondrement et de la libération du matériel végétal par des bulles de cavitation : A) cellule végétale et bulles, B) rupture de la paroi cellulaire et l'effondrement des bulles, C) diffusion du solvant par la rupture cellulaire et la libération des composés.	18
8	Carte représentative des lieux de récolte des espèces 2, 3 et 4 (Tableau 5)	20
9	Préparation de l'échantillon de cladode (OFI Bir-Essalam).	22
10	Extraction conventionnelle des CPT sur plaque agitatrice.	23
11	Extraction aux Ultrasons des CPT : (a) Mise en contact poudre de cladode-solvant (trois tests), (b) Bain à Ultrason, (c) Les trois béchers placés en Bain à Ultrasons.	24
12	Piégeage du radical ABTS ⁺ par un antioxydant donneur de H [•]	26
13	Influence de la concentration du solvant sur le taux des composés phénoliques de l'extrait de cladode d'OFI Bir-Essalam en extraction conventionnelle.	28
14	Influence du temps sur la teneur en polyphénols des extraits de cladodes d'OFI Bir Essalam en EAU.	30
15	Influence de la température sur la teneur en composés phénolique des extraits de cladode d'OFI Bir-Essalam en EAU.	31

16	Effet des techniques d'extraction sur le temps d'extraction et sur la teneur des composés phénoliques des extraits de cladodes d'OFI-Bir Essalam.	33
17	Influence de la température sur la concentration des flavonoïdes totaux des extraits de cladode d'OFI. Bir-Essalam.	34
18	Pourcentage d'inhibition de l'ABTS en fonction de différentes températures.	36
19	Comparaison des teneurs en polyphénols entre les trois extraits de différentes espèces (a) et entre les régions de collecte (b).	37
20	Comparaison des teneurs en Flavonoïdes entre les trois extraits de différentes espèces (a) et entre les régions de collecte (b), EAU à 60 °C.	39
21	Comparaison des teneurs en Flavonoïdes entre les trois extraits de différentes espèces (a) et entre les régions de collecte (b), EAU à 40 °C.	40
22	Comparaison des activités anti-oxydantes entre les trois extraits de différentes espèces (a) et entre les régions de collecte (b).	41

Liste des tableaux

N° du Tableau	Légende	N° Page
1	Comparaison entre trois espèces du genre <i>Opuntia</i> : <i>Opuntia ficus indica</i> , <i>Opuntia megacantha</i> , et <i>Opuntia amyclae</i>	6
2	Différents nom de l'espèce <i>Opuntia ficus indica</i> .	7
3	Principaux éléments contenus dans les cladodes du cactus.	8
4	Les principales classes des composés phénoliques.	11
5	Provenance des différentes espèces du figuier de Barbarie étudiées.	20
6	Principales caractéristiques des cladodes d'OFI.	21
7	Capacités anti-oxydantes de l'extrait d'OFI Bir-Essalam comparées à celle du Trolox (CAET) à différentes températures.	36
8	Capacités anti-oxydantes des extraits comparées à celle du Trolox (CAET).	42

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

N Titre	Titre	N Page
	Introduction générale	1
	Partie théorique	
	Chapitre I : Généralités sur le figuier de Barbarie	
I-1	Origine et distribution du figuier de Barbarie	3
I-2	Description systématique des différentes partie de la plante (racines, cladodes, fleurs, fruits, graines)	3
I-3	Taxonomie	5
I-4	Dénomination	6
I-5	Intérêt et utilisation de la cladode (raquette)	7
I -5-1	Composition chimiques des cladodes	7
I-6	Intérêt et utilisation	8
I-6-1	Intérêt pharmaceutique	8
I-6-2	Intérêt écologique	9
I-6-3	Intérêt économique	9
I-6-4	Intérêt cosmétologique	9
I-6-5	Autres utilisations	10
	Chapitre II : Les composés phénoliques	
II -1	Définition	11
II-2	Classification	11
II-2-1	Flavonoïdes	12
II-2-1-1	Définition	12
II-2-1-2	Structure et classification	12

II-3	Biosynthèse	14
II-4	Rôle et intérêt des composés phénoliques	14
	Chapitre III : Méthodes d'extraction des composés phénoliques	
III-1	Extraction solide-liquide	15
III-2	Extraction assistée par Ultrasons (EAU)	16
III-2-1	Historique	16
III-2-2	Définition des Ultrasons (US)	17
III-2-3	Principe d'extraction par Ultrasons (US)	17
III-2-4	Les paramètres influençant la cavitation	18
III-2-5	Avantage de l'extraction assistée par ultrasons	19
	Partie expérimentale	
	Chapitre IV : Matériel et Méthodes	
IV-1	Echantillonnage	20
IV-1-1	La récolte	20
IV-1-2	Préparation de l'échantillon	21
IV-2	Test d'humidité	22
IV-3	Procédé d'extraction des polyphénols	23
IV-3-1	Extraction conventionnelle	23
IV-3-2	Extraction assistée par ultrasons (EAU)	23
IV-4	Détermination de la teneur en composés phénoliques totaux (CPT)	24
IV-5	Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FT)	25
IV-6	Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test de l'ABTS	25
IV-7	Analyse des poudres de cladodes par spectroscopie à transformée de Fourier (IRTF)	26

IV-8	Etude statistique	27
Chapitre V : Résultats et Discussions		
V-1	Détermination de la teneur en eau	28
V-2	Extraction des composées phénoliques	28
V-2-1	Extraction conventionnelle	28
V-2-2	Extraction assistée par Ultrasons (EAU)	29
V-2-2.1	Détermination du temps d'extraction optimal	29
V-2-2.2	Détermination de la température d'extraction optimale	31
V-3	Comparaison entre les deux méthodes d'extraction	32
V-4	Dosage des flavonoïdes totaux (FT)	33
V-5	Evaluation de l'activité anti-oxydante (test d'ABTS)	35
V-6	Comparaison des teneurs en composés phénoliques totaux entre les espèces du genre <i>Opuntia</i> et entre région de collecte	37
V-7	Comparaison des teneurs en Flavonoïdes totaux entre les espèces du genre <i>Opuntia</i> et entre région de collecte	39
V-8	Comparaison entre les activités anti-oxydantes entre les espèces du genre <i>Opuntia</i> et entre région de collecte	40
V-9	Analyse infrarouge	42
Conclusion générale		45

Introduction

Le continent africain est un continent doté de la plus riche biodiversité dans le monde. L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plante médicinale comporte des milliers d'espèces présentent divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (**Aberkane, 2006**).

Certaines espèces de cactus ont fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques depuis plusieurs décennies. Parmi ces espèces on retrouve le figuier de Barbarie très abondant en Algérie, particulièrement dans les régions de la Kabylie (**Ksouri et al, 2012**), et qui est originaire des régions arides et semi-arides du Mexique (**Nharingo and Moyo, 2016**). Le Fiquier de Barbarie est connu sous le nom scientifique d'*Opuntia ficus indica*. Bien qu'*Opuntia ficus indica* ne possède pas d'épines et présente donc un trait de distinction très significatif par rapport à d'autres espèces du genre *Opuntia*, il est à noter qu'il existe de grandes similarités morphologiques entre *Opuntia ficus indica* et d'autres espèces du même genre, comme *Opuntia megacantha* et *Opuntia amyclae*. Aussi, le genre *Opuntia* inclut près de 1600 espèces dont la classification reste très controversée. La culture du figuier de Barbarie est peu exigeante en investissement et le revenu qu'elle peut générer est important. En plus, sur le plan écologique, elle est d'une grande utilité pour la lutte contre l'érosion et stabilité des sols (**Neffar, 2012**). En Algérie, il existe un grand intérêt pour le figuier de Barbarie. Plusieurs travaux ont été réalisés au L3BS et publiés concernant l'extraction et la caractérisation du mucilage de la raquette de l'*Opuntia ficus indica* (**Adjeroud et al, 2015 ; Felkai-Haddache et al, 2015a, Felkai-Haddache et al, 2015b ; Lefsih et al, 2016 ; Lefsih et al, 2018; Adjeroud et al, 2018**), l'extraction de l'huile des graines, ou bien la fabrication de jus à partir du figuier de Barbarie (**Terki et al, 2018**). Récemment (Mai 2019) le ministère Algérien de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche a officiellement déclaré la plante comme filière agricole autonome. Ceci va permettre l'élaboration et l'amélioration des stratégies de développement des cultures de la plante.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'étude d'une partie du figuier de Barbarie : La cladode, qui constitue un sous-produit et pourra être exploité dans de nombreuses applications. Les raquettes sont caractérisées par leur effets sur la santé et leur richesse en composés bioactifs. Parmi ces derniers, les antioxydants et les piègeurs radicaux qui exercent un effet protecteur dans plusieurs maladies (**Boutakiout, 2015**). A titre d'exemple, l'introduction des cladodes dans un régime alimentaire présente des effets bénéfiques sur le taux de cholestérol sans effets secondaires, sur le taux de glucose et de la lipoprotéine dans le sang (**Augulo-Bejarano et al, 2014**).

L'extraction des composés phénoliques à partir d'un matériel végétal, est une étape très importante dans leur identification. En outre, plusieurs facteurs comme la nature et la concentration du solvant, la température et le temps d'extraction peuvent influencer d'une manière significative l'efficacité de l'extraction ainsi que l'activité anti-oxydante. Il existe des méthodes classiques qui sont couramment utilisées pour l'extraction des composés bioactifs et qui requièrent généralement une consommation importante en solvant, et l'utilisation des températures élevées durant un temps de traitement long. Mais plusieurs techniques d'extraction dites nouvelles ont été décrites pour pallier ces inconvénients. L'extraction assistée par ultrasons est une technique bien adaptée pour l'extraction des polyphénols à partir des végétaux. Cette technologie s'est révélée efficace pour la récupération des polyphénols permettant de diminuer le temps d'extraction et d'utiliser des solvants respectueux de l'environnement et de qualité alimentaire (**Pradal, 2016**).

A notre connaissance, très peu de travaux existent en bibliographie concernant l'extraction des molécules bioactives notamment les polyphénols des cladodes du figuier de Barbarie par la technique aux Ultrasons et encore moins la comparaison de leurs teneurs entre différentes espèces en Algérie, d'où notre intérêt pour cet axe. Seules les pectines des raquettes d'*Opuntia* ont été récemment extraites par ultrasons (**Bayar et al, 2017**).

L'objectif de notre travail est de : valoriser les raquettes du figuier de Barbarie en optimisant les conditions d'extractions des composés phénoliques de la cladode, d'évaluer l'activité anti-oxydante de ces derniers, de doser la teneur en flavonoïdes, et de comparer ces mêmes paramètres entre trois espèces (*Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantha*, et *Opuntia amyclae*), récoltées de deux différentes régions (Béjaia et Souk Ahras). Nous avons jugé utile de structurer le présent document en deux volets. Le premier qui est une analyse bibliographique qui présente la description du figuier de Barbarie, les généralités sur les polyphénols et les méthodes d'extraction de ces derniers. Le deuxième volet est une étude expérimentale présentant les modes opératoires des méthodes d'extraction et des tests effectués, ainsi que la présentation des résultats obtenus et leurs interprétations. Nous finirons par une conclusion et des perspectives de recherches qui serviront à compléter le présent travail.

Partie Théorique

Chapitre I

Généralités sur le figuier de Barbarie

I-1 Origine et distribution du figuier de Barbarie :

Le figuier de Barbarie est une plante originaire des zones tropicales du continent Nord-Américain ; en particulier du Mexique (Araba et al, 2000).

Il a été introduit en Afrique du Nord (Algérie, Tunisie, Maroc) vers le 16^{ème} siècle. Sa culture s'est diffusée rapidement dans le bassin de la méditerranée. Elle s'est également répandue dans l'hémisphère Sud, notamment en Afrique du Sud, à Madagascar, à la Réunion, à l'île Maurice, en Inde, à Ceylan, et en Australie. On peut également le trouver au Canada, en Argentine et au Pérou (Rapport du Ministère de l'agriculture et de la pêche Maritime, 2010).

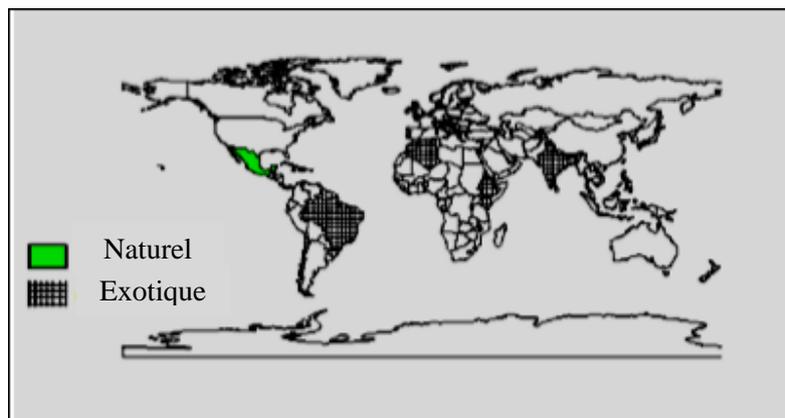


Figure 1. Distribution géographique du figuier de Barbarie (Neffar, 2012).

La **Figure 1** distingue l'aire d'origine ; le Mexique (en vert) et les nouvelles aires de distribution (en noir) : Brésil, Chili, Etats Unis, Inde, Israël, Italie, Espagne, Erythrée, Portugal, Algérie, Tunisie, Libye, Maroc, Afrique du Sud, Ethiopie, Soudan, Tanzanie, Kenya, Uganda.

En Algérie, près de 50.000 hectares à travers le territoire national sont consacrés à la culture de la figue de Barbarie (notamment à Souk Ahras et à Tebessa), il existe aussi un nombre important d'opérateurs versés dans les activités de transformation et d'exportation de ce fruit selon le président de l'association nationale pour le développement du cactus (Anonyme 1).

I-2 Description systématique des différentes parties de la plante (racines, cladodes, fleurs, fruits, graines) :

Opuntia ficus indica (L) Mill, communément appelée figuier de Barbarie ou cactus Nopal, appartient à la famille des *Cactaceae*, et aux angiospermes dicotylédones. Une famille d'environ 1500 espèces de cactus (Butera et al, 2002). L'espèce est cultivée dans les climats arides, comme dans les régions méditerranéennes d'Amérique centrale (Ginestra et al, 2009). Le figuier de Barbarie est une plante arborescente robuste qui peut mesurer jusqu'à 5 mètres de hauteur, avec un tronc épais et ligneux (Neffar, 2012), caractérisé par ces feuilles réduites en

épines, qui présentent une grande capacité d'adaptation aux conditions les plus hostiles. La plante produit une biomasse importante d'une manière très efficace (Araba, 2000).

Deux formes d'*Opuntia ficus indica* (L) poussent dans plusieurs steppes Algériennes :

1. **Les formes inermes** : qui présentent des différences au niveau de leurs pores, la couleur du fruit et la période de fructification.
2. **Les formes épineuses** : font partie de trois étages bioclimatiques différentes, et elles diffèrent entre elles par la couleur de la chaire et par la présence d'épines (Su et Zhao, 2003).



Figure 2. Trois espèces du figuier de Barbarie appartenant au genre *Opuntia* : (a) *Opuntia ficus indica* (inermis), (b) *Opuntia megacantha* (épineuse) (Boutakiout, 2015), et (c) *Opuntia amyclae* (épineuse)

Concernant les constituants de la plante :

- a- Le système racinaire** : est xéromorphe superficiel et charnu, à extension horizontale. La distribution des racines dépend du type de sol et de la technique culturale. Elle est caractérisée par une grande capacité d'absorption d'eau (Snyman, 2006).
- b- Les raquettes (cladodes)** : de forme elliptique ou ovoïdale, de couleur vert mat ayant une longueur de 30 à 50 cm, une largeur de 15 à 30 cm et une épaisseur de 1.5 à 3 cm (Wallace et Gibson, 2002). Elles sont recouvertes d'une cuticule cireuse (la cutine) qui limite la transpiration de la plante et la protège contre les prédateurs. Elles assurent également la fonction chlorophyllienne à la place des feuilles (Neffar, 2012).
- c- Fleurs marginales** : ont une largeur de 4 à 10 cm (Schweizer, 1997) elles sont situées au sommet des raquettes ou sur la face la plus exposée au soleil, elles sont hermaphrodites, de couleur jaunâtre et deviennent rougeâtre à l'approche de la sénescence de la plante (Neffar, 2012).

d- Fruit : c'est une grosse baie charnue et ovoïde ou piriforme, uniloculaire de 4 à 8 cm de couleur variant du jaune au rouge violacé (Schweizer, 1997), la pulpe est juteuse et sucrée, de couleur rouge ou jaune et contient de nombreuses graines (Maaoui, 2014).

f- Graines : sont riches en vitamines et en oligoéléments lui confèrent de nombreuses propriétés, et c'est à partir de ces graines que l'on obtient une huile recherchée (Revue nature et santé, 2011).

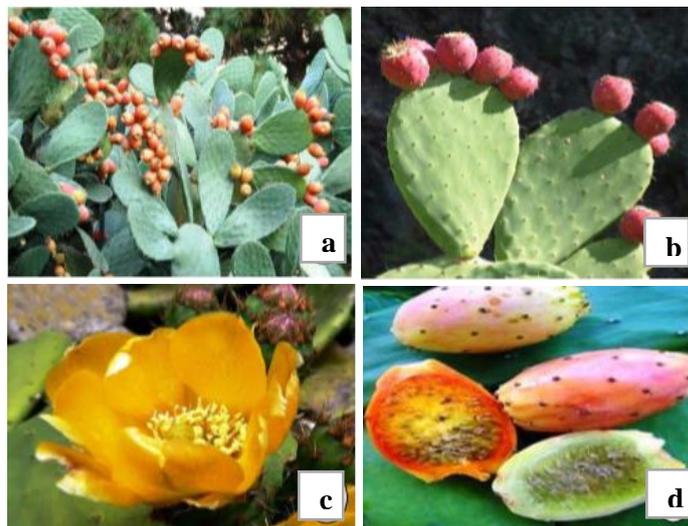


Figure 3. Présentation des différentes parties du cactus : (a) la plante, (b) les raquettes, (c) les fleurs, et (d) le fruit (Oumaya, 2012).

I-3 Taxonomie :

La classification systématique du figuier de barbarie est la suivante : (Wallace et al, 1997)

Règne : <i>Plantae</i>	Famille : <i>Cactaceae</i>
Sous règne : <i>Trachéobionta</i>	Sous famille : <i>Opuntioideae</i>
Embranchement : <i>Phanérogames</i>	Tribu : <i>Opuntieae</i>
Sous embranchement : <i>Magnoliophyta</i>	Genre : <i>Opuntia</i>
Classe : <i>Magnoliopsida</i>	Sous genre : <i>Platyopuntia</i>
Sous classe : <i>Caryophyllidae</i>	Espèce : <i>Opuntia ficus indica</i> (L)
Ordre : <i>Opuntiales</i>	Sous espèce : <i>Opuntia</i> spp

Le genre *Opuntia* est taxonomiquement diversifié et largement distribué dans les Amériques ; 78 espèces sont originaires du Mexique où l'on peut trouver la richesse en variantes et cultivars sauvages et semi-domestiqués (Astello-Garcia et al, 2015). Dans ce travail une comparaison en teneurs des polyphénols totaux a été faite entre trois espèces du genre *Opuntia*, deux sont représentées en **Figure 2**, la troisième espèce *Opuntia amyclae* est aussi un cactus épineux. La forme inerme d'*Opuntia ficus indica*, commune aujourd'hui en agriculture, est le résultat d'un

Chapitre I. Généralités sur le figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*)

long processus de sélection en culture et est absente des populations sauvages. Selon Bravo Hollis et Sánchez Mejorada (1991), sa domestication a commencé il y a environ 8 000 ans (Inglese et al, 2018). Plusieurs taxons sont mentionnés comme ancêtres putatifs d'*Opuntia ficus indica*, en particulier, *O. megacantha* et *O. streptacantha*. En 1919, Britton et Rose ont divisé *Opuntia* en plusieurs séries, soulignant que, bien que la série *Ficus-indica* (*Opuntia ficus indica*, *O. crassa* et *O. undulata*) a été étroitement liée à la série *Streptacanthae* (qui comprend 12 espèces, y compris *O. amyclae*, *O. megacantha* et *O. streptacantha*), ils ont gardé ces deux séries par commodité. Outre le manque d'épines de la série *Ficus-indica*, Colunga et al. (1986) ont trouvé d'autres différences fondamentales qui renforcent la séparation des deux séries. Ainsi, ces deux groupes peuvent être différenciés en fonction de la taille du cladode et de la longueur de l'aréole, la longueur des fruits et des graines, ainsi que la longueur et le poids de pulpe du fruit (Reyes-Agüero, 2005). Le tableau suivant montre les différences taxonomiques entre les 3 espèces étudiées dans ce travail :

Tableau 1. Comparaison entre trois espèces du genre *Opuntia* : *Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantha*, et *Opuntia amyclae* (Reyes-Agüero, 2005)

Caractéristique	<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amyclae</i>	<i>O. megacantha</i>
Cladodes			
<i>Forme</i>	elliptique	Oblongue à elliptique	Obovale* à oblongue
<i>Longueur (cm)</i>	27-63	30-40	30-60
<i>Largeur (cm)</i>	14-31	15-20	18-19.5
<i>Épaisseur (cm)</i>	1-3		1.5-2.5
Aréoles			
<i>Nombre de lignes</i>	6-19		7-14
<i>Longueur (mm)</i>	2-8		2-4
<i>Distances entre les lignes (cm)</i>	2.7-5		5-8
Epines	+ Absents	Présents	Présents
<i>Nombre par aréole</i>	0-1	1-4	1-7
<i>Longueur (mm)</i>	3-10	à 30	20-35
<i>Couleur</i>	Blanches	Blanches	Blanches ou marrons
Fruits			
<i>Couleur de l'écorce</i>	Jaune, vert-jaune, Jaune-rouge, rouge ou pourpre		Jaune ou jaune rouge
<i>Longueur (cm)</i>	5-10		4.5-11
<i>Diamètre (cm)</i>	4-7		3-4

+ : majoritairement, *obovale = en botanique feuille de forme ovale mais dont la partie supérieure est plus large que la partie inférieure par rapport à la tige de la feuille.

I-4 Dénomination :

Plusieurs noms sont attribués au figuier de Barbarie afin de donner une parfaite présentation de cette plante (Oued et al, 1990). Parmi ces noms on trouve : Cactus-raquette, Oponce, Figue de chrétien (Felice, 2004) et autres comme l'indique le tableau :

Tableau 2. Différents noms de l'espèce *Opuntia ficus indica* (Oued et al, 1990).

Nom scientifique	Nom berbère	Nom Français	Nom Anglais
<i>Opuntia ficus indica</i>	El hendi ; Sabara ; Karmoussa n'sarra.	Figuier de Barbarie ; Le Nopal ; Figuier d'inde.	Prickly pear

I-5 Intérêt et utilisation de la cladode (raquette) :

Les cladodes sont également appelées : Coussinets de cactus, tiges, légume de cactus, phyloclades, Nopals ou Pencas (Stintzing et al, 2005) et feuille du Cactus (Nharingo et al, 2016).

Les jeunes cladodes appelés Nopalitos au (Mexique) sont consommées par les populations en tant que légumes en raison de leur texture tendre et leur richesse en fibres (Stintzing and Carle, 2005). En outre leur valeur nutritive est similaire à celle d'un grand nombre de légumes et feuilles (Arba, 2009).

I -5-1 Composition chimiques des cladodes :

Les raquettes du figuier de Barbarie sont caractérisées par un déséquilibre nutritionnel bien qu'elles soient une source d'énergie et d'eau. Les teneurs en eau des raquettes fraîches varient de 80 à 90% (Benattia, 2017). Les raquettes sont réputées être riches en minéraux essentiellement le calcium et les oxalates et en mucilage, polysaccharides (pouvant dépasser 70 types) environ de structure chimique parfois très complexe retrouvés dans plusieurs plantes supérieures. D'une façon générale, les tissus des *Opuntia* ont une faible teneur en protéines et en phosphore. Ils sont moyennement riches en énergie et très riches en eau (85-90%) et en vitamine A. La teneur des raquettes en matières azotées totales ainsi que la teneur en paroi totale, en lignocellulose et en lignine sont faibles. La fraction majoritaire du mucilage du figuier de barbarie, est constituée d'un polysaccharide neutre et les analyses de sucres montrent une prédominance de D-galactose, de D-xylose, de L-arabinose, de L-rhamnose et d'acide D-galacturonique. Il a la capacité d'absorber des grandes quantités d'eau ou de solvants et se disperse en formant des colloïdes visqueux ou gélatineux (Oumaya, 2012). Le figuier de Barbarie présente une forte teneur en composés phénoliques associés à la prévention des métastases du cancer (Angulo-Bejarano et al, 2014). Que ce soit au niveau des cladodes qu'au niveau des fruits qui constituent aussi une bonne source de vitamines et de composés intéressants tels que les polyphénols et les bêtaïnes responsables de leurs colorations (Kuti, 2004).

Chapitre I. Généralités sur le figuier de Barbarie (Opuntia ficus indica)

De nombreux facteurs peuvent affecter la composition des cladodes à savoir : l'endroit, la culture, la saison, et l'âge de la plante, par conséquent les teneurs en élément nutritif respectifs varient à la fois entre les espèces et les variétés et ils ne doivent pas être pris comme des valeurs absolue (Stintzing and Carle, 2005).

Tableau 3. Principaux éléments contenus dans les cladodes du cactus (Stintzing and Carle, 2005 ; El moustafa, et al, 2014).

Composants	Matière sèche (g/100 g)	Poids frais (g/100g)
Eau	-	88-95
Glucides	64-71	3-7
Cendres	19-23	1-2
Fibres	18	1-2
Protéines	4-10	0.5-1
Lipides	1-4	0.2
Polyphénols : Ac. Gallique	0.00064-0.00237	

I-6 Intérêt et utilisation :

Le figuier de Barbarie est utilisé dans le domaine de la santé, de la nutrition, et des cosmétiques : Il produit des fruits comestible sucré riche en nutriment ; le fruit et les cladodes sont utilisés pour préparer de la valeur ajoutée tels que : confiture, courge, cornichon, crèmes...etc. Ses graines peuvent être utilisées comme agent aromatisant (Pareek et al, 2003).

I-6-1 Intérêt pharmaceutique :

Le figuier de Barbarie est l'une des plantes médicinales les plus utilisées, en raison de ses propriétés et ces molécules actives qui la composent et qui lui permettent de lutter contre quelques une des affections les plus graves de notre temps ; elle permet de réduire le taux de sucre et de cholestérol dans le sang (Fernandez et al, 1990). Elle permet de traiter certains nombre de maladies telle que les diarrhées, les coliques et les maux de tête, de plus elle possède des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires (Welegerima et al, 2018). En outre la poudre séchée des cladodes a un effet sur le contrôle du sucre et du cholestérol dans le sang (Fernandez et al, 1990). Le thé aux fleurs est utilisé en Sicile comme remède aux maux de reins. Des capsules qui sont faites à partir des fleurs séchées sont utilisées comme régulateur diurétique et comme remède au dysfonctionnement de la prostate (Arba, 2009). De nombreux rapports ont indiqué les effets importants des bêtaïnes des fruits du Nopal, principalement dans la prévention de maladies et autres effets bénéfiques sur la santé (Tesoriere et al, 2004).

Des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de la raquette, ainsi que l'extrait hexanique de la fleur, *in vivo* et *in vitro* ont présenté des activités antimicrobiennes sur des bactéries comme *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* (Sanchez et al, 2010 ; Castillo et al, 2011 ; Yasmineen et al, 2012 ; Ennouri et al, 2014).

I-6-2 Intérêt écologique :

La plante d'*Opuntia ficus indica* ralentie la vitesse de dégradation des sols ; permet de lutter contre l'érosion et la désertification (Sâenz, 2013).

Concernant le traitement des eaux la plante est appliquée aux procédés de coagulation-floculation et de biosorption des minéraux et d'espèces organique telle que les colorants et les pesticides. Ainsi, le mucilage et le jus de la raquette ont montré une grande efficacité dans l'amélioration des rendements du procédé d'électrocoagulation dans l'élimination de polluants minéraux et métalliques en eaux usées (Adjeroud et al, 2015 ; Adjeroud et al, 2018). Nharingo and Moyo, (2016) ont résumé la majorité des applications de la plante dans les procédés de bioremédiation des eaux usées, notamment l'utilisation de la biomasse dans l'élimination des métaux (Prodromou et al, 2013), puisqu'elle produit de grandes quantités de biomasse végétale même dans les conditions extrêmes.

Le mucilage a la capacité aussi d'éliminer la matière organique et les bactéries telles que (*Bacillus cereus*) (Buttice et al, 2010). L'efficacité de ce mucilage est comparable à celle d'un flocculant industriel et offre une alternative économique en terme de dépollution d'eaux usées grâce à son moindre cout et sa non toxicité (Reguieg-Yessad, 2012).

I-6-3 Intérêt économique :

Parmi ses avantages économiques est que la plante ne demande pas de pratiques culturales spécialisées, ni d'apport de fertilisant, ni de traitement antiparasitaire (Habibi, 2004). La culture du figuier de Barbarie ne nécessite pas de sources importantes en eau. De plus, le cactus présente de faibles coûts énergétiques pour la culture en implantation spécialisées (Barbera et al, 1995 ; Pimienta-Barrios and Munoz, 1995).

I-6-4 Intérêt cosmétologique :

L'huile extraite des graines du fruit du figuier de Barbarie appartient à la famille des huiles polyinsaturées, qui a une particularité cosmétique intéressante qui réside dans sa richesse en matières insaponifiables (stérols et tocophérols). Ces substances ont des effets bienfaisants sur

l'élasticité de la peau, le métabolisme cellulaire et la restauration de la structure cutanée (**Rapport du Ministère de l'agriculture et de pêche Maritime, 2010**).

Le mucilage des cladodes est utilisé dans la fabrication des shampoings, des assouplissants des cheveux ; des crèmes dermiques et des laits hydratants (**Fernandez et al, 1990**). Les hydrocolloïdes d'*Opuntia* pourraient être appliqués dans les crèmes similaires à celles de l'*Aloe vera* (L.) (**Eshun et al, 2004**).

I-6-5 Autres utilisations :

- 1. Engrais vert :** les résidus des raquettes ou des fruits et les autres parties de la plante constituent un excellent fertilisant (**Revue nature et santé, 2011**).
- 2. Protection :** cette plante constitue des haies vives qui permettent la fixation des terrains ravinés par les pluies et stabilisent les terres sablonneuses, et sont infranchissables aux animaux sauvages (**Revue nature et santé, 2011**). Le cactus est utilisé comme obstacle contre les incendies car il résiste aux feux (**Chougui et al, 2013**).
- 3. Combustible :** le cactus fournit un excellent bois de chauffage et une flamme éclairante (**Revue nature et santé, 2011**).
- 4. Alimentation de bétail :** Les cladodes du cactus sont appréciées par le bétail car elles sont riches en eau, en fibres, en protéines et en éléments minéraux. Leurs utilisations comme aliment supplément ont été recommandées dans les zones sèches. L'incorporation des cladodes d'*Opuntia* dans l'alimentation de brebis a satisfait leurs besoins énergétiques, et a montré un effet régulateur sur la glycémie et l'hypolipidémie (**Louacini et al, 2012**).
- 5. Application en Biotechnologie :** Différentes applications biotechnologiques du genre *Opuntia* incluant les techniques d'isolement enzymatique, de transformation génétique et de culture *in vitro* de tissus ont été citées dans le travail d'**Angulo-Bejarano et al. (2014)**.

Chapitre II

Les composés phénoliques

II -1 Définition :

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins. Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins.

Le terme « polyphénols » désigne des composés phénoliques, réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols, ce qui éliminerait les mono phénols, donc il est préférable d'utiliser la désignation générale « composés phénoliques ». Ces composés appartiennent au groupe des métabolites secondaires (**Macheix et al, 2005**).

Ce sont des molécules largement répandues dans le règne végétal étant trouvées dans tous les fruits et les légumes. Elles sont présentes au niveau de toutes les parties de l'organisme végétal mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus (**Waksmundzka-Hajnos et al, 2011**). D'un point de vue chimique, elles se définissent par leurs cycles benzéniques porteurs d'au moins un groupement hydroxyle (**Urquiaga, 2000**), libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, sucre...) (**Chira et al, 2008**). Elles peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénols à des composés hautement polymérisés, comme les tanins (**Mahmoudi et al, 2013**).

II-2 Classification :

Les polyphénols se répartissent en de nombreuses classes chimiques, les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette carboné (**Tableau 4**) (**Harbone, 1980, Macheix et al, 1990**).

Tableau 4. Les principales classes des composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6-C1	Acide hydroxy benzoïque	p-hydroxy benzoïque	Epices, fraises
C6-C3	Acide hydroxy cinnamique Coumarines	Acide caféique	Citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6-C2-C6	Stilbène	Resvératrol	Vigne

C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine	Fruits, légumes, fleurs, pomme, raisin, citrus
(C6-C3) ₂	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C15) n	Tannins		Raisin rouge, kaki

Seule la classe des flavonoïdes étudiée au cours de ce travail de mémoire et contenue dans les cladodes du figuier de Barbarie, parmi d'autres polyphénols, sera détaillée ci-dessous.

II-2-1 Flavonoïdes :

II-2-1-1 Définition :

Le terme « flavonoïdes » proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange, cependant d'autres auteurs supposaient que ce terme a été plutôt prêté du flavus qui désigne jaune (**Garon et Guéguen, 2014**). Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres composés colorés ou incolores. Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénoliques, avec plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires (**Knežević S.V. et al, 2012**) et sont largement distribués dans les feuilles, les graines, les écorces et les fleurs des plantes. Plusieurs milliers des molécules ont été identifiées à ce jour. Ils jouent un rôle déterminant dans la protection de la plante des UV, de microorganismes pathogènes et des herbivores (**Heim et al, 2002**).

II-2-1-2 Structure et classification :

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base en C₆-C₃-C₆, formé de deux cycles aromatiques (A et B) reliés par un pont de trois carbones, le plus souvent sous forme d'un hétérocycle C (**Ignat, 2011**) (**Figure 4**).

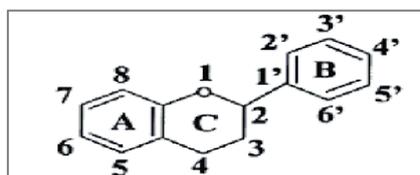


Figure 4. Squelette carboné de base des flavonoïdes (**He et al, 2008**).

En fonction du degré d'hydroxylation des différents cycles et le niveau de méthylation ainsi que le niveau de glycosylation, on peut distinguer différentes classes de flavonoïdes :

a) Isoflavones et flavones :

Structuralement, ils sont composés de deux anneaux aromatiques A et B liés à l'anneau hétérocyclique oxygéné (**Luthria et al, 2007 ; Valls et al, 2009**) ayant une double liaison entre C2 et C3 de l'anneau hétérocyclique (**Fliegman et al, 2010**). La différence entre ces deux classes de flavonoïdes réside dans la position de l'anneau B :

- C1 de l'anneau B est lié à C2 de l'anneau C dans les flavones.
- C2 de l'anneau B est lié à C3 de l'anneau C dans les isoflavones.

De nombreuses études témoignent des propriétés importantes de ces composés, qui résident dans leurs aptitudes antivirales (**Andres et al, 2009**).

b) Flavonols :

Les flavonols portent un OH en position C3, ce sont les flavonoïdes les plus répandus, responsables de la couleur jaune claire (**Khater, 2011**). Ils sont caractérisés par la présence d'une fonction carbonyle sur l'hétérocycle. Ils peuvent être liés à un sucre, le plus souvent le glucose. Ce sont les constituants flavoniques les plus abondants des aliments, notamment, la quercétine, le kaempférol, la myricétine, l'apigénine sont des flavonols. Ils jouent un rôle de protection contre les UV (**Lambert, 2011**), ils possèdent un très fort pouvoir antioxydant en raison de leur structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres (**Liu et al, 2012**).

c) Anthocyanes :

Les anthocyanes font partie de la famille des flavonoïdes, sont responsable de la pigmentation qui varie du bleu au rouge en fonction de leur environnement (**Nanacy et al, 2014**). Elles sont présentes dans les feuilles et les fruits, où elles ont un rôle protecteur contre les UV et le stress oxydant. Les anthocyanes sont solubles et s'accumulent dans les vacuoles des cellules de l'épiderme des feuilles (**Lambert, 2011**). Elles ont été largement étudiées pour des propriétés antioxydantes mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques (**Castaneda- Ovando et al, 2009**). Leurs structures se différencient par le nombre et la position des groupes hydroxyles et méthyles sur le noyau B. Les anthocyanidines sont le plus souvent glycosylées en position C3 et C5 avec le plus fréquemment des monosaccharides (glucose, galactose, rhamnose et arabinose) (**Khater, 2011**).

d) Flavanones :

Ce sont des molécules caractérisées par l'absence de double liaison en 2,3 et par la présence de centre d'asymétrie (**Bruneton, 2015**). Elles existent sous forme libre ou glycolisées. Incolores, elles absorbent fortement dans l'ultraviolet (**Guinard, 1979**). Les flavanones se retrouvent

surtout dans les agrumes et les tomates. La menthe constitue également une source abondante (Benbrook, 2005 ; Ignat I, 2011).

e) Flavanols :

Les flavanols appelés également flavane-3-ols (Richter, 1993), ces composés se distinguent des flavanones par l'absence à la position 4 d'un atome d'oxygène relié au carbone par une double liaison la plus rencontrée est la catéchine (Furhorman et al, 1995). Ils jouent un rôle primordial dans les mécanismes de défense des plantes, influent sur les propriétés organoleptiques et sont potentiellement bénéfiques pour la santé humaine (Kuhnle, 2018 ; Aron and kenny, 2008).

Il est à noter que les composés phytochimiques présents dans les différentes structures du figuier de Barbarie peuvent inclure : quercétine, kaempférol, bétaxanthine, indicaxanthine, lutéoline, isorhamnetin et acide ascorbique parmi d'autres composants (Stintzing, 2005 ; Feugang et al, 2006). Dernièrement Bouaouine et al, (2018) ont même impliqué certains polyphénols (lignine et tanins) dans le mécanisme d'adsorption pour le traitement des eaux usées.

II-3 Biosynthèse :

La formation des composés phénoliques peut être issue de deux voies biosynthétiques :

- Celle de l'acide shikimique qui est à l'origine de la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques (Richter, 1993 ; Croteau et al, 2002) et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (Bruneton, 1993).
- Celle de l'acétate qui conduit à des poly acétates de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (Richter, 1993 ; Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Ils peuvent être issus du shikimate et de l'acétate qui donnent naissance à toute une série de composés d'origine mixte tels que les flavonoides, stilbènes, xanthonés...etc (Bruneton, 2009).

II-4 Rôle et intérêt des composés phénoliques :

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu et essentiel principalement dans les différents aspects de la vie des plantes, mais aussi dans l'utilisation que fait l'homme de ces divers végétaux. Ils peuvent intervenir dans les critères de qualité, qui aident l'homme à choisir les organes végétaux (fruits, légumes...) destinés à la consommation, ils sont impliqués dans les relations des plantes avec leurs environnements (Macheix et al, 2005), en particulier contre les radiations UV, les attaques microbiennes (Moheb A. et al, 2011). De plus, ils peuvent

s'engager dans plusieurs processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (**Merghem R., 2009**). Ces composés prennent une importance croissante, particulièrement à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (**Stanley et al, 2003**). En effet, leurs rôles d'antioxydants naturels suscitent de plus en plus d'intérêt pour la protection de l'homme contre certaines maladies telles que le cancer. Ils ont été décrits également comme étant des neuroprotecteurs, antiviraux, chimio préventifs (**Hanhineva K., 2010**). Ils sont utilisés en industrie agro-alimentaire, pharmaceutiques, cosmétiques comme additifs (**Hannebelle et al, 2004**).

Chapitre III

**Méthodes d'extraction des composés
phénoliques**

La première étape à la fois pour l'analyse et l'exploitation des constituants bioactifs des plantes médicinales est leur extraction de la matrice cellulaire. La méthode d'extraction «idéale» devrait être quantitative, non destructive et rapide (**Dahmoune et al. 2013**). Outre les procédés classiques d'extraction par solvant couramment utilisés pour la récupération de composés phénoliques (**Proestos et al, 2006**), des méthodes non conventionnelles, plus rapides et automatisées ont récemment été utilisées, par ex. extraction par fluide supercritique (SFE), extraction par liquide sous pression (PLE), extraction assistée par micro-ondes (MAE) et extraction assistée par ultrasons (UAE) (**Aybaster et al, 2013**). En réalité, les travaux dans ces domaines ont montré que les ultrasons et le rayonnement micro-ondes pourraient accélérer le processus d'extraction en améliorant l'extraction des composés bioactifs, en particulier des composés phénoliques.

Ci-après seront cités et détaillées les méthodes utilisées pour l'extraction des polyphénols dans le présent travail.

III. 1 Extraction solide-liquide :

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide». Le but de cette opération est d'extraire et de séparer un ou plusieurs composants mélangés à un solide dans un solvant (**Herzi, 2013**). L'extraction est une étape nécessaire et présente dans de nombreux procédés de fabrication dans les différents domaines industriels relevant de la pharmacie, de la cosmétique, de la parfumerie et de l'agroalimentaire (**Chemat, 2011**).

La macération est aussi une méthode d'extraction solide-liquide, traditionnelle, à température ambiante, qui peut durer 30 min (**Lehmann ; 2013**). Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec (ou sans agitation) (**Handa, 2008**). Généralement elle consiste surtout à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans un solvant pour extraire des principes actifs (composés phénoliques, flavonoïdes...).

Cette méthode permet une extraction douce des principes actifs surtout lorsqu'ils sont thermolabiles (**Chabrier, 2010**) et elle convient à la plupart des racines, rhizomes, et écorces (**Lehman, 2013**), et est surtout utilisée pour les plantes à gomme ou à mucilage, un macéré est ainsi obtenu (**Perry, 2013**).

Elle est basée sur la solubilité des principes actifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs telle que : la nature du matériel végétal ; la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant et la durée d'extraction. L'extraction solide-liquide commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Une fois le processus

déclenché, le solvant d'extraction se diffuse à l'intérieur de la cellule végétale ce qui entraîne la solubilisation de composés bioactifs, ces derniers vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage soit atteint (**Handa, 2008**). L'extraction de molécules issues du matériel végétal ou ligneux par les techniques conventionnelles se révèle être délicate en raison de ces inconvénients :

- 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**).

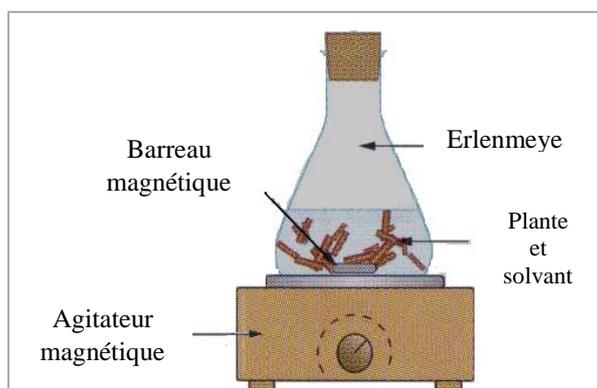


Figure 5. Représentation schématique de l'extraction solide-liquide sous agitation
(Anonyme 2)

Comme mentionné, est apparue depuis quelques années déjà une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction permettant de réduire à la fois le temps d'opération, la consommation de solvant et la quantité d'effluents, l'extraction assistée par ultrasons en est une.

III-2 Extraction assistée par Ultrasons (EAU) :

III-2-1 Historique :

La première production des ondes ultrasonores remonte aux années 1830, cependant leur utilisation dans la transformation des produits alimentaires a commencé dans les années 1920 aux Etats-Unis. Depuis les années 1950, les Etats-Unis ont employé les ondes sur les équipements industriels pour le nettoyage, l'homogénéisation et le découpage ultrasonique des produits alimentaires. Dans les années 1990, le scellage des matériaux d'emballage et la soudure du plastique ont également émergé. Le développement des capteurs piézoélectrique a mené à une augmentation de la recherche sur les ultrasons qui sont appliqués, par la suite dans la désintégration des matériaux, l'homogénéisation et dans l'extraction de substances (**Mawson and Knoerzer, 2007**).

L'EAU est une technique émergente utilisée pour l'extraction des composés bioactif à partir des matrices végétales. Elle a été mise au point dans le but d'améliorer l'efficacité et le rendement d'extraction ainsi de réduire le temps d'extraction (**Chemat et al, 2011**). Cette technique est simple à mettre en place, et permet de réaliser plusieurs extractions en même temps (**Achat, 2013**). Elle peut être utilisée pour obtenir différents composés phytochimiques, tel que les composés phénoliques ; ces derniers sont appréciés par divers secteurs de l'industrie alimentaire et pharmaceutique, grâce à leur propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoire, anticancéreuses et principalement à la capacité de leur antioxydants (**Parisi et al, 2014**).

Parmi les principales applications rapportées pour les ultrasons figurent : l'émulsification, la cristallisation, la cinétique des réactions, les fermentations et l'extraction de composés (**Kadam, 2015**), c'est la dernière application qui fait l'objet de notre intérêt.

III-2-2 Définition des Ultrasons (US) :

Ce sont des ondes mécaniques identiques aux ondes sonores mais sont inaudibles pour l'être humain. Les fréquences des ultrasons se situent de 40 khz jusqu'à 100 khz. Leur propagation est rectiligne et très directives, de plus il est possible de les caractériser en une propagation quasi-optique, car ils peuvent être focalisés dans une très petite zone pour obtenir une grande densité d'énergie et de puissance. Ils nécessitent un milieu de propagation, surtout à haute fréquence, car ils se propagent moins efficacement dans l'air. En plus, il y'a affaiblissement suivant le carré des distances, ce qui veut dire qu'ils sont plus efficaces quand ils sont appliqués très proche de la surface à irradier (**H-Kuttruff, 1991**). L'irradiation par US peut être appliquée par deux manières : par contact direct avec l'échantillon (sonificateur à sonde ultrasons) ou par contact indirect auquel où l'échantillon est isolé par une paroi (bain à ultrasons) (**Pico, 2013**).

Le principal inconvénient du bain à US est qu'il fonctionne généralement à une seule fréquence (20 ou 40 khz), en revanche les systèmes à US couplés à une sonde sont très efficaces et permettent de développer une puissance jusqu'à 100 fois supérieur à celle fournie par le bain à ultrasons (**Pico, 2013**).

III-2-3 Principe d'extraction par Ultrasons (US) :

L'extraction par US consiste à immerger la matière végétale dans un solvant, le tout sera soumis à l'action des ultrasons (**Chemat, et al 2011**). Les ondes sonores peuvent se propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de leur propagation dans le milieu (**Luque-Garcia and Luque de Gastro, 2003**) ; des bulles sont formées de cette

différence de pression et la répartition de ces cycles va conduire à leur implosion. Ce phénomène est appelé la cavitation (Dolatowski et al, 2007) (Figure 6).

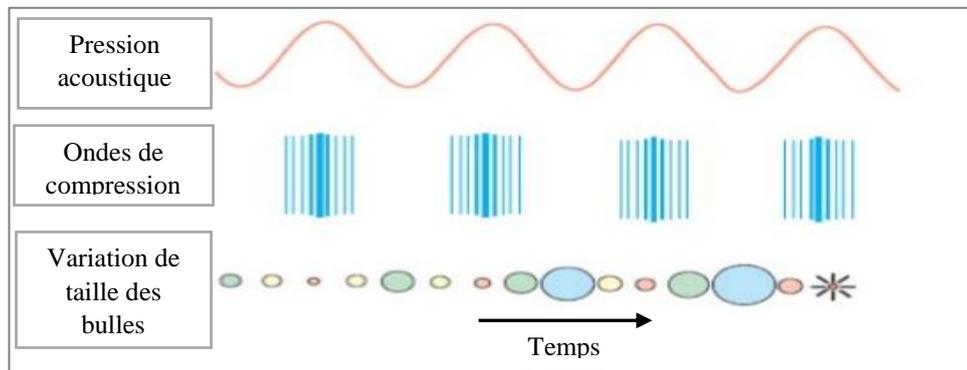


Figure 6. Représentation schématique du phénomène de cavitation (Draye et al, 2009).

La cavitation décrit l'oscillation non linéaire d'une bulle de gaz et/ou de vapeur dans un liquide (Leighton, 2007), elle peut améliorer la pénétration du solvant et détruit les membranes cellulaires lorsque des intensités élevées sont appliquées (Li et al, 2004) (Figure 7).

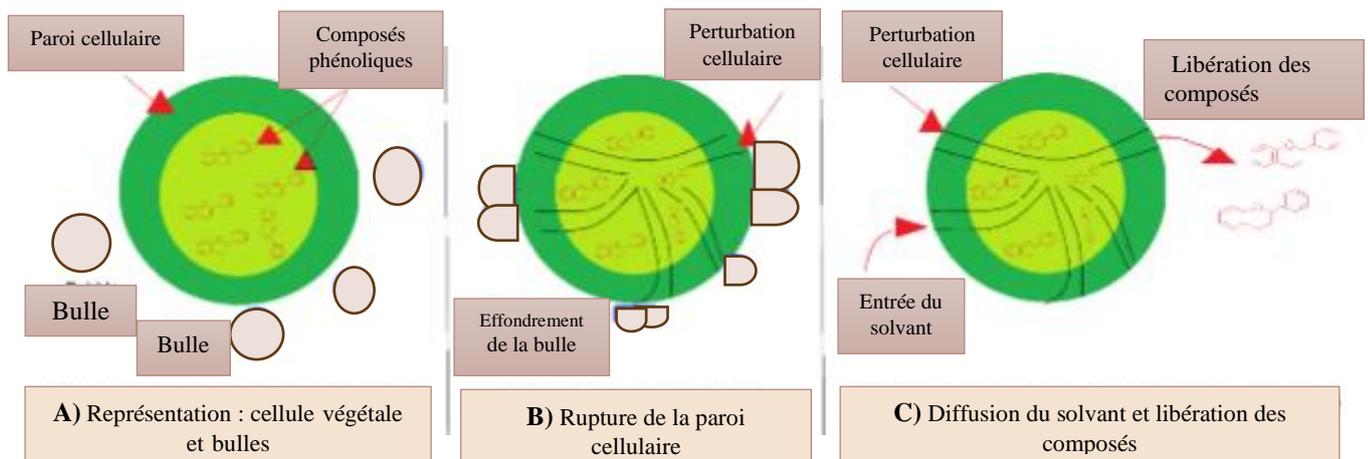


Figure 7. Représentation graphique de l'effondrement et de la libération du matériel végétal par des bulles de cavitation : A) cellule végétale et bulles, B) rupture de la paroi cellulaire et effondrement des bulles, C) diffusion du solvant par la rupture cellulaire et libération des composés (Shirsath et al, 2012).

III-2-4 Les paramètres influençant la cavitation :

Dans le cas de l'EAU, il est nécessaire de prendre en considération l'influence de certains paramètres, tel que les dimensions des réacteurs, le solvant, le ratio solide-liquide, la structure et la taille des particules (Romdhane and Gourdon, 2002). Parmi d'autres qu'on cite :

1- La fréquence des ondes ultrasonores : la haute fréquence réduira l'effet de la cavitation, à une plus basse fréquence, des cavitations plus violentes seront produites ayant pour résultats une augmentation de la température et de la pression (**Wu et al, 2013**).

2- La puissance des US : il s'agit d'un paramètre qui a l'effet le plus marqué. Une puissance minimale est requise pour que la cavitation ait lieu (seuil de cavitation). L'effet des US augmente avec la puissance injectée. Cependant il existe une limite physique : lorsque la cavitation devient trop intense, un bouclier des bulles de cavitation se forme sur la surface émettrice, l'onde est fortement amortie par le coussin de bulles, ce qui diminue l'effet des US (**Laugier, 2007**).

3- La température : une augmentation de la température diminue la solubilité des gaz dans les liquides, et augmente la tension de la vapeur du solvant, donc le seuil de cavitation est abaissé (**Izella, 2009**). Cependant il est prouvé qu'une augmentation de la température diminue l'efficacité des US (**Mason, 1988**).

4- L'interaction solvant/échantillon : le choix de solvant est généralement basé sur l'obtention d'une grande affinité moléculaire entre le solvant et le soluté (**Li et al, 2004**).

5- Le temps : est un paramètre important car il influence le processus d'extraction ; c'est pour cela qu'il est important de l'optimiser afin de réduire le coût énergétique du procédé (**Lendro Gálvan D'Alessandro, 2013**).

III-2-5 Avantage de l'extraction assistée par ultrasons :

Les techniques innovantes telles que l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes, l'extraction par fluide supercritique et l'extraction par solvant accéléré sont des techniques rapides et efficaces pour extraire les principes actifs des plantes. Ces techniques peuvent fonctionner à haute température et/ou à haute pression améliorant nettement la cinétique d'extraction (**Wang et al, 2006**). Généralement les avantages sont :

1. Récupération des composés d'intérêt à partir de différentes matrices végétales, par rapport aux méthodes classiques d'extraction (**Christian et al, 2008**).
2. Extraction plus courte et plus efficace (**Christian et al, 2008**).
3. Réduction de la température de fonctionnement, ce qui permet l'extraction des composés thermolabiles (**Chemat et al, 2004**), et réduction de la consommation de l'énergie (**Christian et al, 2008**).
4. Possibilité d'utilisation de n'importe quel solvant, ce qui permet d'intervenir dans l'extraction d'une large variété de substances naturelles (**Chemat et al, 2004**).
5. Un faible coût de l'appareillage (**Chemat et al, 2004**).

Partie Expérimentale

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

IV-1 Echantillonnage :

IV-1-1 La récolte :

Le présent travail a été réalisé sur deux lots de cladodes du figuier de Barbarie d'espèces variées provenant de deux différentes wilayas. Le premier lot représente des cladodes provenant de la wilaya de Béjaïa, le second lot concerne des cladodes provenant de la wilaya de Souk Ahras selon le tableau suivant :

Tableau 5. Provenance des différentes espèces du figuier de Barbarie étudiées

Espèces	Wilayas et communes de récolte	
	Lot 1	Lot 2
1. <i>Opuntia ficus indica</i> (OFI)	Béjaïa, Bir-Essalam	
2. <i>Opuntia ficus indica</i> (OFI)	Béjaïa, Akbou	Souk Ahras (Sidi fredj)
3. <i>Opuntia megacantha</i> (OM)	Béjaïa, Amizour	Souk Ahras (Sidi fredj)
4. <i>Opuntia amyclae</i> (OA)	Béjaïa, Oued-ghir	Souk Ahras (Sidi fredj)

Les différences taxonomiques entre ces trois espèces sont expliquées en **Tableau 1 (pages 6)**. Elles sont représentées en **Figure 2, page 4**.

Il est à noter que les espèces 2, 3 et 4 des deux régions ont été collectées de différentes régions (**Figure 8**), identifiées et fournies par Mr. MAHDEB Amokrane (INRAA, Béjaïa) sous forme broyée (poudre), et que seule la raquette de l'espèce OFI provenant de Béjaïa, Bir Essalam a été préparée comme expliqué en **Section VI-1-2**.

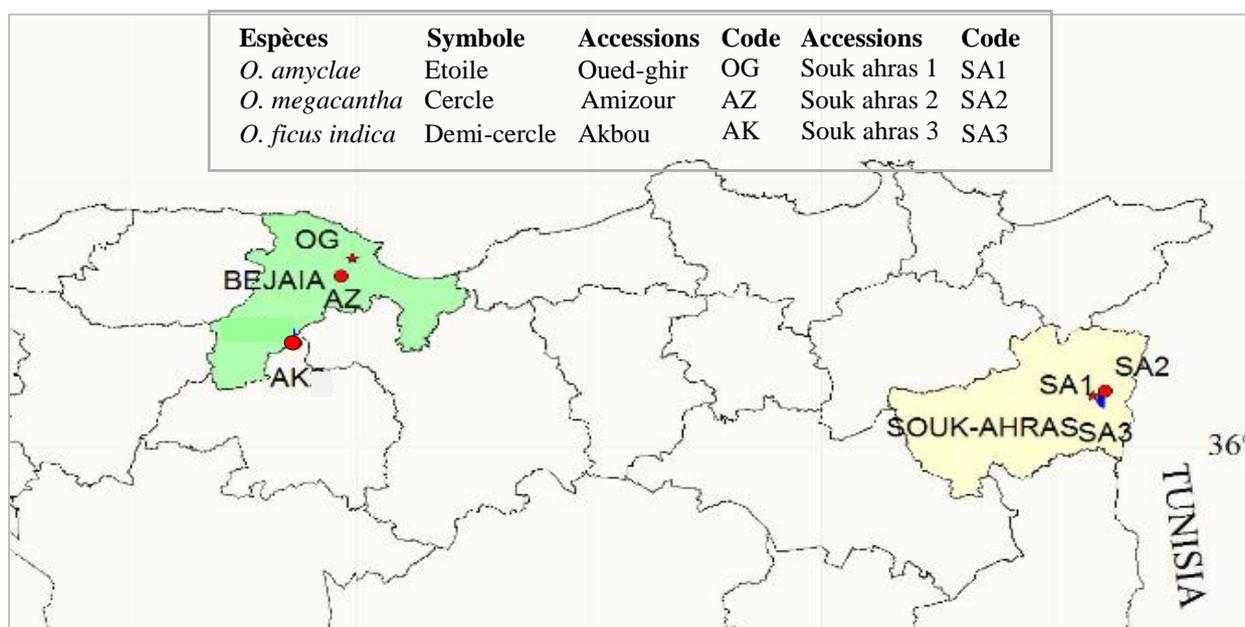


Figure 8. Carte représentative des lieux de récolte des espèces 2, 3 et 4 (Tableau 5).

La récolte des cladodes inermes (sans épines) de l'OFI Bir-Essalam, de la région de Béjaia, au lieu- dit Bir-Essalam (Nord-est de l'Algérie) a été faite pendant le mois de Février 2019. Les raquettes ont été emballées dans des sacs, puis transportées au laboratoire de Biomathématiques Biophysique Biochimie et Scientométrie (3BS). Les cladodes des poudres données (2, 3 et 4, **Tableau 5**) ont été récoltées des différentes régions en Mars 2017.

IV-1-2 Préparation de l'échantillon :

Les raquettes de l'OFI Bir-Essalam ont été conservées à froid à 4°C et l'une de ces raquettes a été nettoyée par élimination des taches noir (aréoles) et de glochides, ensuite par rinçage à l'eau de robinet suivit d'eau distillée. La mesure des dimensions de la raquette ainsi que le nombre d'aréoles, le poids et d'autres paramètres ont été notés et présentés ci-dessous :

Tableau 6. Principales caractéristiques des cladodes d'OFI

Paramètres	Valeurs des paramètres mesurés
Forme	Ovoïde
Poids (g)	1795.94
Largeur (cm)	22
Longueur (cm)	49
Epaisseur (cm)	1.5 ±0.25
Nombre d'aréoles	142 ±5
Distance entre aréoles	4.5 ±0.5

Ensuite la raquette a été découpée en petites bandelettes pour qu'elle sèche rapidement, par la suite la cuticule (la partie supérieur) a été retirée délicatement à l'aide d'un couteau de cuisine. Ces bandelettes ont été découpées et séchées à l'air libre dans un endroit sec pendant une nuit ensuite à l'étuve à température de 40 °C pendant maximum 12 jours dans le but d'éliminer toute trace d'humidité tout en préservant le maximum de ses composés.

A l'aide d'un broyeur électrique domestique de type Philips, la raquette a été broyée jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette dernière a été tamisée à granulométrie de 250 µm afin de récupérer une poudre fine qui sera utilisée par la suite pour la préparation des extraits bruts.

La poudre d'OFI a été conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière pour éviter la photo-oxydation des substances bioactives.

Les poudres données (2, 3 et 4, **Tableau 5**) ont été séchées par exposition des cladodes au soleil à l'air libre d'abord, puis par séchage à l'étuve aérée à 56 °C pendant 48h. La cuticule n'a pas été retirée pour ces échantillons contrairement aux raquettes d'OFI Bir-Essalam et le tamisage a été fait avec un tamis de 200 µm.



Figure 9. Préparation de l'échantillon de cladode (OFI Bir-Essalam)
(Photographies prises en Laboratoire)

IV-2 Test d'humidité :

La dessiccation est la méthode utilisée pour déterminer le taux d'humidité :

10 g de cladodes d'OFI Bir-Essalam ont été pesés, puis placés dans une étuve à une température comprise entre 103 et 105 °C jusqu'au séchage et jusqu'à une masse constante. Les cladodes ont été retirés de l'étuve après 8 heures environ. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subit lors de la dessiccation.

Le taux d'humidité est déterminé selon la formule suivante :

$$H(\%) = (M_0 - M_1 / M_0) \cdot 100$$

Avec : **M₀** : masse, en gramme de l'échantillon avant étuvage.

M₁ : masse, en gramme de l'échantillon après étuvage

Le taux de la matière sèche en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 - H(\%)$$

IV-3 Procédé d'extraction des polyphénols :

L'extraction de polyphénols a été faite à partir de la poudre préparée d'OFI Bir-Essalam par procédé conventionnelle et innovant (par Ultrasons) en variant certains facteurs afin d'améliorer les rendements d'extractions. Ensuite les conditions optimales obtenues ont été appliquées à l'extraction de polyphénols à partir des poudres de cladodes collectés des autres régions.

IV-3-1 Extraction conventionnelle :

La procédure d'extraction conventionnelle solide-liquide sous agitation des composés phénoliques totaux (CPT) a été réalisée selon la méthode décrite par **Guevera-Figueroa et al, (2010)** en y apportant quelques modifications, et aussi celle de **Dahmoune et al, (2013)**.

Afin d'optimiser l'extraction 0.5 g de la poudre d'OFI Bir-Essalam ont été ajoutés à 50 mL d'éthanol à concentration de 20, 50 et 96 %, dans un bécher de 80 mL. Les mélanges ont été agités soigneusement sur une plaque agitatrice (600-700 rpm) (**Figure 10**) pendant deux heures et demi à température ambiante (20-22 °C) et centrifugés à 5000 tr/10 min. Chaque extraction a été répétée trois fois. Les surnageants ont été récupérés et conservés à 4° C jusqu'à utilisation.



Figure 10. Extraction conventionnelle des CPT sur plaque agitatrice

IV-3-2 Extraction assistée par ultrasons (EAU) :

Une quantité de 0.5 g de la poudre d'OFI Bir-Essalam ont été ajoutés à 50 mL de solvant d'extraction (éthanol 50%), 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 11**). Les extraits sont récupérés après centrifugation à 5000 tr/10 min, chaque extraction est répétée trois fois. Pour optimisation des rendements d'extraction, l'EAU a été réalisée à différent temps

d'extraction (1, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70 et 80 min) à température fixe de 20 °C. Ensuite après détermination du temps optimal, la température a été variée (30, 40, 50 et 60 °C). Cette démarche vise à déterminer le temps et la température optimale d'extraction des polyphénols par EAU.



Figure 11. Extraction aux Ultrasons des CPT : a) Mise en contact poudre de cladode-solvant (trois tests), b) Bain à Ultrasons, c) Les trois béchers placés en Bain à Ultrasons.

IV-4 Détermination de la teneur en composés phénoliques totaux (CPT) :

➤ Principe :

Le réactif du Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de polyphénols contenu dans l'extrait (**Géorge et al, 2005**).

➤ Mode opératoire :

La teneur en CPT des extraits a été effectuée en utilisant le protocole décrit par (**Géorge et al, 2005**) : dans 250 μ L de chaque extrait a été ajouté 1.25 mL de la solution de Folin-Ciocalteu (1/10), après 2 min d'incubation à l'obscurité, 1mL de la solution de carbonate de sodium (7.5 %) est ajouté, ensuite le mélange est agité au vortex et incubé à une température de 50 °C pendant 15 min au bain marie. Les absorbances ont été ensuite lues à une longueur d'onde de 760 nm au spectrophotomètre UV-Visible.

La teneur en CPT de chaque extrait est calculée à partir de la courbe d'étalonnage (**Annexe**) préparée avec l'acide gallique (utilisé comme standard), et elle est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g de MS). Le blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction.

Après extraction des polyphénols par le procédé d'extraction assistée par ultrasons (EAU), le dosage des flavonoïdes et l'évaluation de l'activité anti-oxydante ont été effectués sur les extraits obtenus aux conditions optimales comme expliqué dans les sections suivantes.

IV-5 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (FT) :

➤ **Principe :**

Les flavonoïdes possèdent un groupement OH libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium (AlCl_3), un complexe jaunâtre par chélation de l'ion (Al^{3+}). La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'extrait (**Ribereau-Gayon, 1968**).

➤ **Mode opératoire :**

La teneur en FT des extraits a été déterminée selon la méthode décrite par (**Djeridane et al, 2006**) : un volume de 1 mL d'extrait a été ajouté à 1 mL d'une solution d' AlCl_3 (2%), après 15 min d'incubation à l'obscurité l'absorbance est mesurée à 430 nm.

La teneur en FT a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) et déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (**Annexe**) réalisée avec de la quercétine préparée dans l'éthanol (50%). Le blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction.

IV-6 Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test de l'ABTS :

➤ **Principe :**

La méthode de radical ABTS⁺ est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical cation (**Jri et al, 2010**). Ce radical cationique est facilement formé par oxydation, en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleu (**Prouillac, 2006**).

L'addition d'un antioxydant à la solution d'ABTS⁺ entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité anti-oxydante des composés testés, du temps et de la concentration (**Re et al, 1999**).

➤ **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, 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 température ambiante et à l'abri de la lumière. La solution d'ABTS est diluée avec l'éthanol 96 % jusqu'à l'obtention d'une densité optique initiale (DO_i) à 734 nm de 0.7 ± 0.02 . 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). La capacité anti-oxydante des extraits testés est exprimée par rapport aux concentrations du standard Trolox (**Annexe**), donc en milligramme équivalent Trolox par gramme de matière sèche (mg CAET/g MS). Le blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction. Le pouvoir anti-oxydant 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 :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{DO}_i - \text{DO}_f / \text{DO}_i) \cdot 100$$

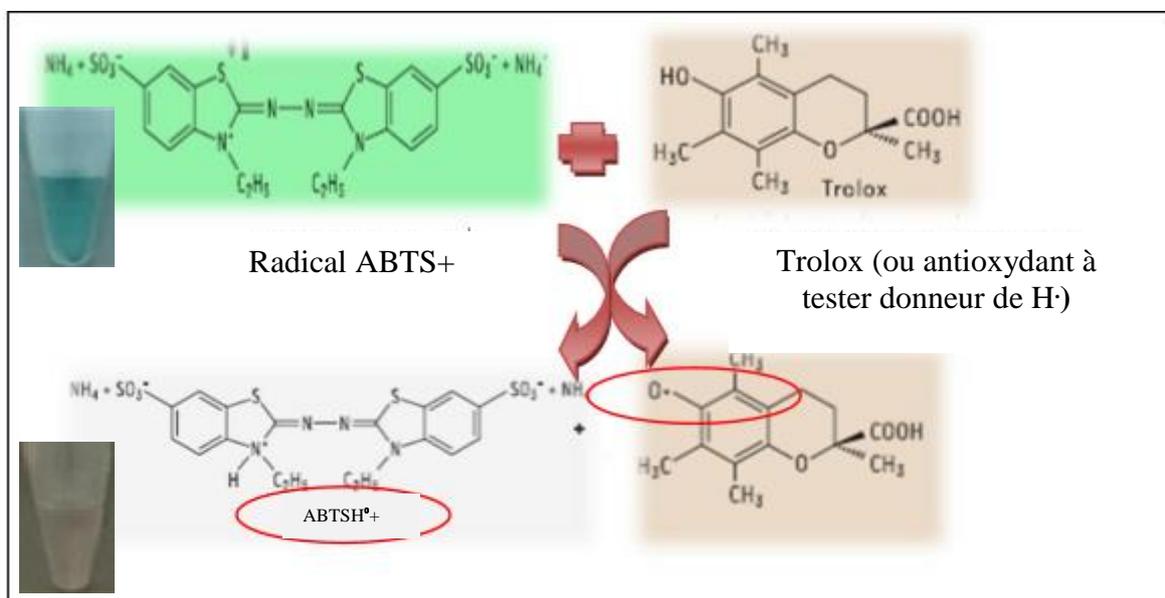


Figure 12. Piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Marc et al, 2004 ; Nenadis et al, 2004) (modifiés)

IV-7 Analyse des poudres de cladodes par spectroscopie à transformée de Fourier (IRTF) :

Les poudres de cladodes préparés, ainsi que les extraits bruts liquides obtenus après extraction de trois espèces (OFI Bir-Essalam, OFI Souk Ahras, OM et OA de Béjaia) ont été analysés par IRTF, afin de mettre en évidence principalement la nature polyphénolique des échantillons.

➤ Principe :

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet, via la détection des vibrations

caractéristiques des liaisons chimique, d'effectuer l'analyse des fonctions chimique présentes dans le matériau. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et une diminution de l'intensité réfléchiée ou transmise et enregistrée. Le domaine de l'infrarouge entre 4000 et 400 cm^{-1} (2.5-25 μm) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie pour une géométrie donnée, les modes de vibration actifs en infrarouge peuvent être déterminés grâce à la théorie des Groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent, à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant de l'identifier (**Julie ANTHONI, 2007**).

➤ **Mode opératoire :**

L'analyse spectrale a été enregistrée dans un spectrophotomètre infrarouge dans la plage de 500 à 4000 cm^{-1} . L'échantillon a été préparé sous forme de pastilles faites d'un mélange de 2 g de poudre (OFI Bir-Essalam, OFI Souk Ahras, OM et OA de Béjaia) avec 80 mg de Bromure de potassium KBr qui est transparent au rayonnement infrarouge dans la zone 4000 à 500 cm^{-1} . Le tout finement broyé et mélangé dans un mortier de manière à être homogène. Le mélange est pressé sous une pression de 60 bar dans une pastilleuse pendant une minute.

Pour l'analyse des extraits liquides d'OFI Bir-Essalam, OFI Souk Ahras, OM et OA de Béjaia, l'analyse spectrale a été enregistrée dans un spectrophotomètre infrarouge dans la plage de 200 à 1800 cm^{-1} . La méthode est comme suit :

Environ 150 μL sont prélevés de chaque extrait et déposés sur une plaque KBr, ensuite la plaque KBr est placée dans le spectrophotomètre infrarouge afin d'analyser les composés présents dans les extraits liquides.

IV-8 Etude statistique :

Une analyse de Variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie du test HSD de Tukey utilisant le logiciel JMP (SAS, USA), ont été utilisés pour montrer s'il existe des différences significatives entre les extractions. 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 \pm S.D.

Chapitre V

Résultats et Discussions

V-1 Détermination de la teneur en eau :

Les cladodes d'OFI Bir-Essalam renferment un taux d'humidité de 94,3 %, à partir de cette valeur on a pu déterminer le pourcentage de la matière sèche qui a été estimé à 5.7 %.

La valeur obtenue est proche à celle trouvé par (Valente et al, 2010) qui était de 95 %. En générale, la teneur en eau des cladodes est comprise entre 80 et 95 % (Murillo-Amador et al, 2002). D'après ces résultats, on constate que les raquettes sont riches en eau. C'est donc pour cela que cette plante est bien adaptée aux climats chaude et secs, voire même désertiques.

V-2 Extraction des composés phénoliques :

Afin d'optimiser l'extraction des composés phénoliques des raquettes de la figue de Barbarie, plusieurs paramètres sont pris en considération. Les facteurs choisis dans cette étude sont :

- Le type de la Méthode d'Extraction
- La Concentration du solvant
- Le Temps
- et la Température d'extraction

V-2-1 Extraction Conventionnelle :

L'extraction conventionnelle solide-liquide sous agitation a été effectuée à température ambiante (20-22 °C) sur l'extrait de cladode d'OFI Bir-Essalam. Les effets des différentes concentrations d'éthanol (20,50, 96 %) sur l'efficacité de l'extraction, qui a duré deux heures et demi, ont été étudiés, et les résultats sont montrés ci-dessous :

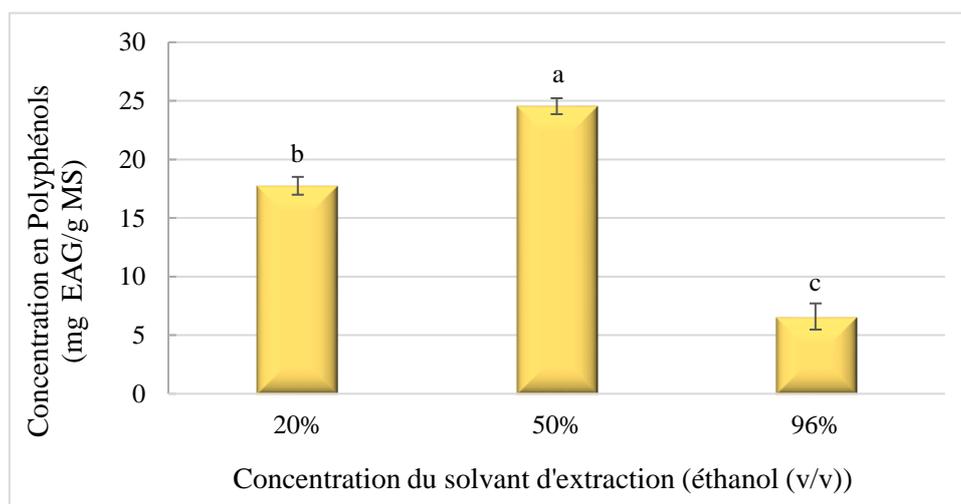


Figure 13. Influence de la concentration du solvant sur le taux des composés phénoliques de l'extrait de cladode d'OFI Bir-Essalam en extraction conventionnelle. Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant ($a > b > c$).

Les résultats des rendements obtenus par Extraction solide-liquide donnés par la **Figure 13** montrent que la plus forte teneur est enregistrée en utilisant l'éthanol à 50% (24.54 ± 0.68 mg EAG/g MS) suivi par l'éthanol à 20% (17.75 ± 0.76 mg EAG/g MS), tandis que l'extrait obtenu avec l'éthanol à 96% a révélé la plus faible valeur (6.59 ± 1.11 mg EAG/g MS).

L'addition de l'eau distillée à l'éthanol augmente de façon remarquable son pouvoir d'extraction. Nos résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs qui ont révélé que les solvants mixtes sont très efficaces à extraire les composés phénoliques. Selon **Mohammedi et Arik (2011)** l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un fort enrichissement des extraits en composés phénoliques. Cette supériorité des solvants mixtes est due à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à celui obtenu par un solvant pur (**Trabelsi et al. 2010**). Cette augmentation peut être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions. Par contre, des études antérieures ont montré que l'utilisation de solvants organiques très purs peut entraîner la déshydratation et l'effondrement des cellules végétales, ainsi que la dénaturation des protéines de la paroi cellulaire, rendant ainsi l'extraction des composés phénoliques difficile (**Garcia et al, 2015**). Dans ce contexte, **Sahin and Samli (2013)** ont rapporté que le meilleur rendement d'extraction des composés phénoliques étant obtenu en utilisant un mélange 50%-50% d'éthanol-eau. Ces auteurs soulignent un effet de synergie entre les solvants, puisque l'eau agit comme un agent gonflant de la matrice végétale, tandis que l'éthanol induit la rupture du lien entre les solutés et la matrice.

Il apparaît dans notre travail que l'éthanol à 50% soit la meilleure concentration du solvant d'extraction choisi, ainsi cette concentration sera utilisée pour la suite des extractions.

V-2-2 Extraction assistée par Ultrasons (EAU) :

V-2-2-1 Détermination du temps d'extraction optimal :

L'EAU a été appliquée pour l'extraction des polyphénols totaux à partir des extraits de cladode d'OFI Bir-Essalam, en utilisant l'éthanol à 50% et une température fixe de 20 °C. L'effet du temps sur l'extraction a été étudié, en variant le temps dans un intervalle de 1 à 80 min. Les résultats sont illustrés dans la **Figure 14**.

Il ressort à travers l'observation de cet histogramme, qu'au fur et à mesure que le temps d'extraction augmente, la teneur en CPT augmente initialement et atteint des valeurs maximales de 35.83 ± 3 et 36.41 ± 0.94 mg EAG/g MS à 30 et 60 min, respectivement. Cependant, cette

augmentation chute brutalement et les teneurs les plus faibles sont révélées après 60 min de temps d'extraction.

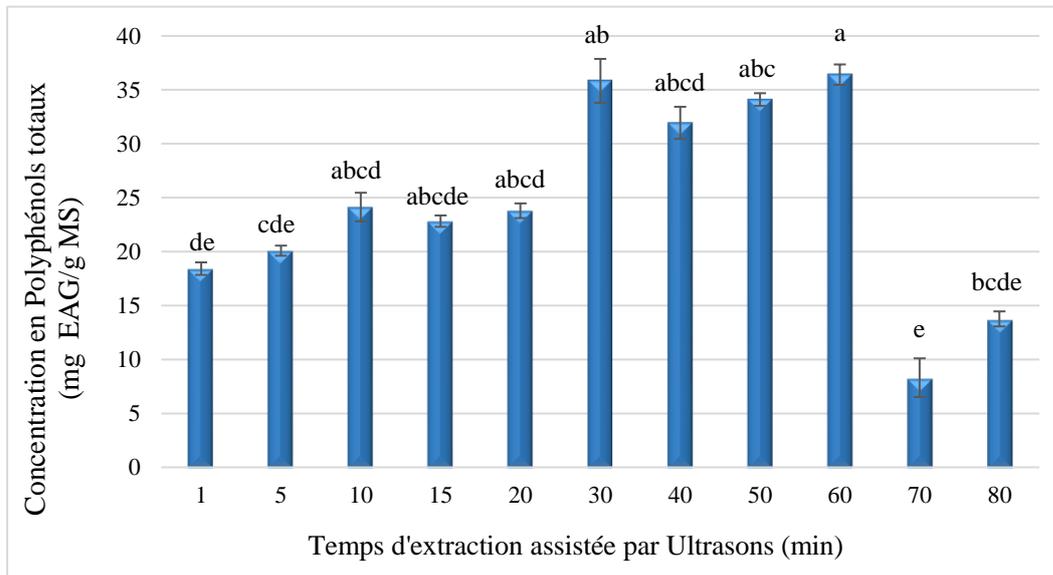


Figure 14. Influence du temps sur la teneur en polyphénols des extraits de cladode d'OFI Bir-Essalam en EAU. Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant ($a > b > c \dots$).

Sahin et al (2013) ont rapporté que la teneur en composés phénoliques extrait par ultrason augmente en fonction du temps, suivant un mécanisme constitué de deux étapes principales : La première appelée étape de lavage, qui couvre les 10 à 20 premières min d'extraction. Dans cette étape on effectue à la dissolution des composants solubles sur les surfaces de la matrice et c'est à ce stade qu'on peut obtenir jusqu'à 90% de la récupération de la teneur total en composés phénoliques, indiquant ainsi un taux d'extraction extrêmement rapide (**Tao et al, 2014**). Dans la deuxième étape appelée extraction lente, le transfert de masse est réalisé par diffusion et le temps de ce processus peut durer 60 à 100 min (**Sahin, 2013**). Plusieurs études ont démontré qu'un temps de contact prolongé entre le solvant et le matériel végétal, peut entraîner la dégradation de certains principes actifs. D'après (**Carrera et al, 2012 ; Odabas and Koca, 2016**), les longues durées de l'effet des ultrasons peuvent dégrader les composés phénoliques entraînant ainsi une diminution du rendement d'extraction. Aussi, **Ma et al, (2008)** affirme que l'irradiation par ultrasons à long terme peut endommager la qualité des matériaux thermosensibles.

L'étude statistique ne montre pas d'importante différence significative entre le temps d'extraction de 30 et de 60 min, ainsi afin de favoriser un gain de temps, recherché par les

industriels, et aussi pour éviter les durées prolongées d'exposition aux ultrasons, nous avons donc opté pour un temps d'extraction optimal raisonnable de 30 min pour la suite de l'étude.

V-2-2-2 Détermination de la température d'extraction optimale :

L'effet de la température sur la teneur en polyphénol totaux a été évalué entre 30 et 70 °C, avec un temps d'extraction de 30 min et l'éthanol à 50%. La **Figure 15** illustre les résultats obtenus.

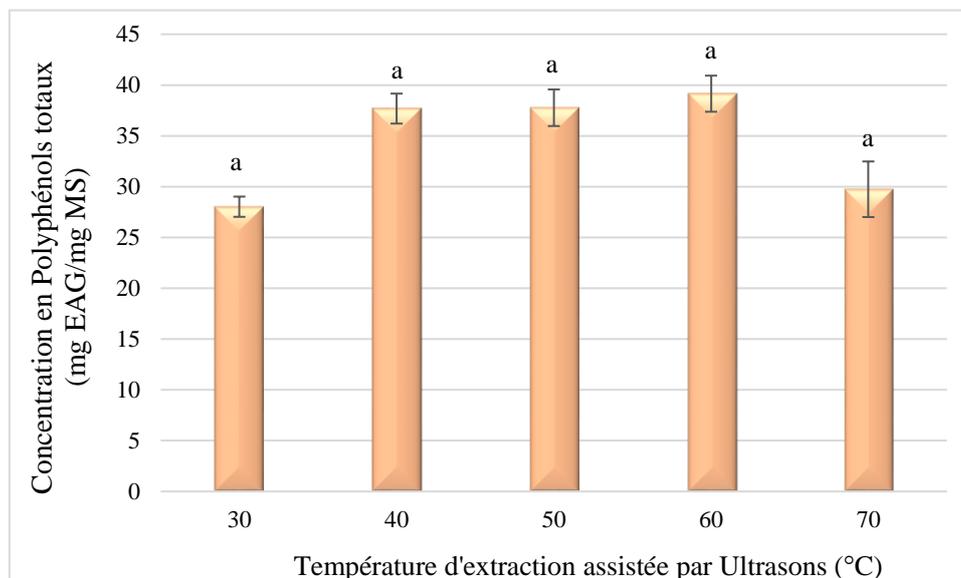


Figure 15. Influence de la température sur la teneur en composés phénoliques des extraits de cladode d'OFI Bir-Essalam en EAU. Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$)

Les résultats indiquent que la concentration des polyphénols atteint un équilibre de désorption et de solubilité à 60 °C avec un taux de 39.14 ± 1.77 mg EAG/g MS, tandis que la plus faible concentration est révélée à 70 °C (29.74 ± 2.7 mg EAG/g MS). De ce fait la température de 60 °C pourrait être considérée comme température optimale d'extraction des polyphénols totaux.

D'une manière générale l'effet positif des températures élevées pourraient être expliqué par la grande solubilité des polyphénols dans le solvant, une diffusivité plus élevée de molécules extraites et l'amélioration du transfert de matière, de plus l'augmentation de la température pourrait aussi modifier la structure de la matrice végétale et par conséquent faciliter le processus d'extraction (**Prasad et al, 2009**). Cependant l'augmentation de la température n'a pas toujours un effet bénéfique, car une température excessive peut provoquer une dénaturation des produits à extraire, et peut également affecter la solubilité des composés phénoliques.

Ma et al (2009) ont observé une réduction du rendement d'extraction des polyphénols à des températures élevées. Cela a aussi été démontré par (**Carrera et al, 2012**), lorsque le processus

de l'ultrason atteint des températures supérieures à 75 °C, il y a risque de dénaturation et donc diminution du contenu phénolique. En outre, **Tao, Y et al, (2014)** ont constaté que l'application des températures élevées aurait également pour inconvénient une diminution de l'intensité de la cavitation résultant de la tension superficielle plus basse et de la pression de vapeur accrue des bulles de cavitation.

En comparant nos résultats à ceux obtenus par **Allali et al, (2017)** le contenu phénolique d'extraits éthanoliques des raquettes d'OFI est de l'ordre de 111.2 ± 5.8 mg EAG/ mg d'extrait lyophilisé, et de 73.41 µg d'acide gallique de l'extrait lyophilisé. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux trouvés dans ce travail et ceci peut être dû à plusieurs facteurs. Par contre des valeurs plus faibles ont été notées par **Augulo-Bejarano et al, (2014)**, qui ont rapporté plusieurs valeurs des taux des CPT : 562-905 (µg of EAG/g), 0.57-2.3 mg GAE/g et 2.7-3.7 (g GAE/100 g ms) que ça soit pour la farine de Nopal, du Nopal déshydraté ou les sous-produits du Nopal, respectivement.

Il est à noter que les extraits obtenus avec différents solvants peuvent se comporter différemment. Il existe plusieurs études concernant l'extraction des cladodes du figuier de Barbarie par exemple ; avec l'acétonitrite, l'acétone, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, l'hexane, le méthanol et l'eau. Ces études ont montré que la plupart des composés phénoliques se trouvent dans l'extrait éthanolique. D'autre part, **Halmi (2015)** a étudié six extraits de raquettes d'OFI de Constantine et a noté que la teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait d'acétate d'éthyle (318 ± 0.57 mg EAG/g d'extrait) suivi par l'extrait butanolique (234.96 ± 0.78 mg EG/g d'extrait), puis viennent les extraits méthanoliques, aqueux, éther de pétrole chloroformiques avec des teneurs 46 ± 0.61 , 35.2 ± 0.64 , 20.4 ± 0.32 , 15.4 ± 0.83 mg EAG/g d'extrait, respectivement. Ces résultats sont différents des nôtres vu la nature du solvant utilisé, la méthode d'extraction utilisée, ça peut être dû aussi à la localisation géographique et au stade de maturation du cactus au moment de la collecte.

V-3 Comparaison entre les deux méthodes d'extraction :

Dans ce travail, nous avons utilisé deux méthodes d'extraction : Extraction conventionnelle solide-liquide et l'EAU. La différence entre ces deux méthodes, quant aux teneurs en polyphénols totaux obtenues, est illustrée dans la figure ci-après. Les deux méthodes d'extraction utilisant l'éthanol (50%) comme solvant d'extraction du même extrait d'OFI Bir-Essalam ont permis d'obtenir respectivement des taux d'extraction de 24.54 ± 0.68 et 39.14 ± 1.77 mg EAG/g MS après optimisation (concentration du solvant, temps et température).

La **Figure 16** montre que la méthode d'extraction influence significativement le rendement en composés phénoliques et que l'EAU améliore le rendement d'extraction en composés phénoliques de 14.6 % comparée à l'Extraction conventionnelle, comme signalé par **Rodriguez-perez et al, (2015)**.

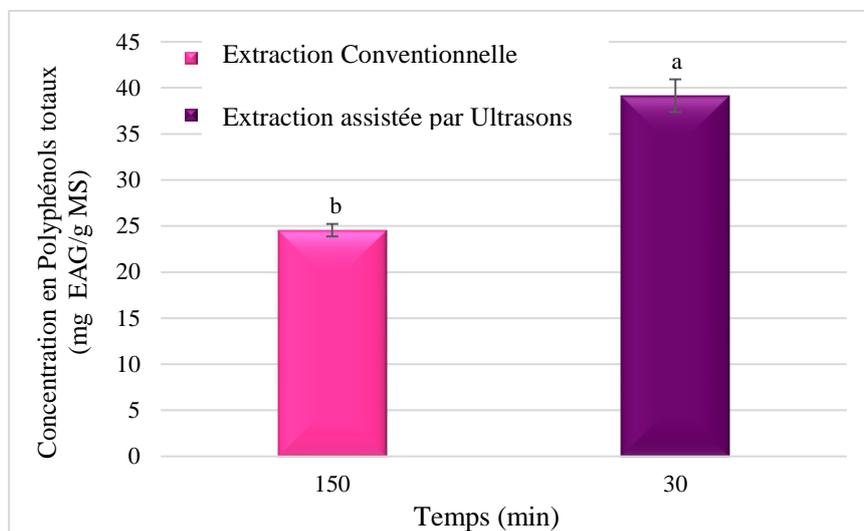


Figure 16. Effet des techniques d'extraction sur le temps d'extraction et sur la teneur des composés phénoliques des extraits de cladode d'OFI Bir-Essalam. Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant ($a > b$).

L'EAU a aussi permis un gain de temps de 2 heures par rapport l'extraction conventionnelle : 35.83 mg EAG/g MS obtenu en 30 min. Les ultrasons ont l'avantage de réduire considérablement le temps d'extraction et d'augmenter les teneurs en composés phénoliques comme l'explique **Bourgou et al, (2016)**. **Pan et al. (2012)** ont également rapporté que les EAU réduisent le temps d'extraction des composés phénoliques à partir de fleurs de grenade, et **Carrera et al. (2012)** l'ont rapporté pour l'extraction des polyphénols à partir de raisins, où l'EAU prenait 10 fois moins de temps que l'extraction par macération. Toutes les études ont convenu que cette amélioration de l'extraction est due au fait que l'utilisation des ultrasons favorise la rupture de la paroi cellulaire, avec l'augmentation ultérieure de la pénétration du solvant et accélère la diffusion des molécules (**Medina-Torres et al, 2017**).

V-4 Dosage des Flavonoïdes totaux (FT) :

Le dosage des flavonoïdes a été effectué sur les mêmes extraits obtenus par EAU à 30 min et aux différentes températures testées (**Figure 15**), sachant que leur teneur pouvait changer en fonction de la température bien que la température de 60 °C soit considérée comme température optimale pour l'extraction des CPT pour cet extrait (OFI Bir-Essalam). Ainsi, l'impact de la température (de 30 à 70 °C) sur la teneur en flavonoïdes est illustré en **Figure 17**.

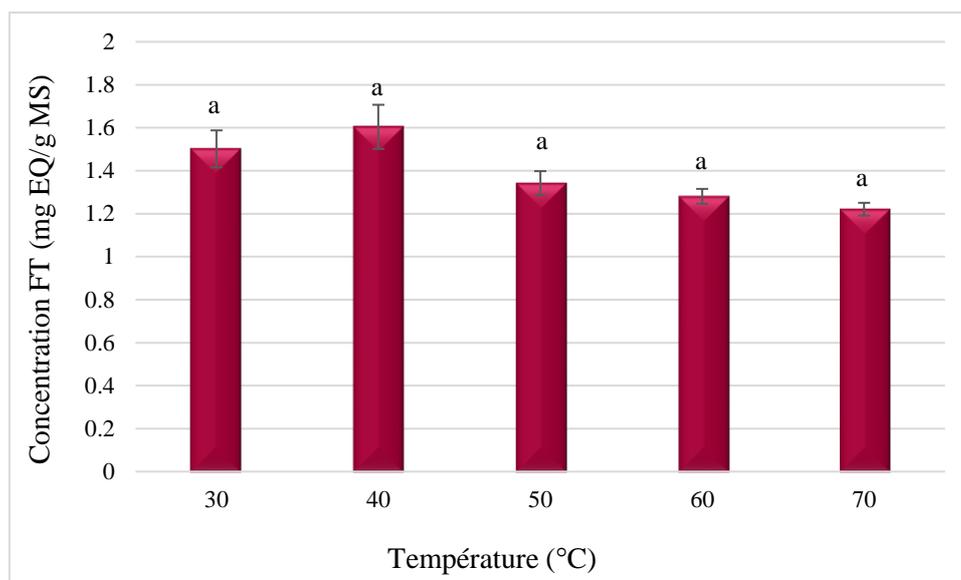


Figure 17. Influence de la température sur la concentration des flavonoïdes totaux des extraits de la raquette d'OFI Bir-Essalam. Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Les résultats indiquent que la concentration optimale des flavonoïdes (1.6 ± 0.07 mg EQ/g MS) est obtenue à une température maximale de 40 °C. Nous remarquons que cette température ne concorde pas avec la température maximale d'extraction des polyphénols (**Figure 15**). Ceci est en accord avec les travaux de **Kuijpers et al, (2002)**, où il a été constaté que le rendement maximum d'extraction a été réalisé aux températures significativement différentes pour chaque composé de la matrice. La faible valeur des flavonoïdes obtenu à 40 °C par rapport à la teneur obtenu par les polyphénols, indique que les extraits éthanoliques contiennent d'autres composés phénoliques tels que les tannins, les acides phénoliques qui possèdent d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes. L'OFI est très riches en divers polyphénols (**Astello-Garcia et al, 2015 ; Augulo-Bejarano et al, 2014**).

Nos résultats indiquent des quantités différentes à celles obtenues par **Medina-Torres et al, (2011)**, dont la teneur en flavonoïdes des cladodes était de 23.40 ± 1.83 mg/g. Toutefois, ils sont proches de ceux d'**Allai et al, (2017)** où la teneur en flavonoïdes dans les cladodes d'OFI était de 5.4 mg de flavonoïdes/d'échantillon sec dans l'extrait éthanolique.

Généralement il a été démontré que les graines et les cladodes sont pauvres en Flavonoïdes : Dans le travail de **Medjadji (2012)**, le dosage quantitatif des flavonoïdes a permis d'obtenir une valeur de 91.48 mg/100g au niveau des fleurs, alors que ceux des graines et des cladodes d'OFI présentant des taux nettement inférieur avec des valeurs 22.4 et 11.86 mg/100g, respectivement. Résultat plus faible que le nôtre.

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux obtenus par les différents auteurs, car l'utilisation de différents solvants et méthodes d'extractions réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Selon **Dahmoune et al, (2013)**, l'extraction assistée par microondes a été plus efficace comparée à l'extraction sous agitation et l'extraction assistée par ultrasons pour des extraits d'écorce d'orange. Aussi les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée, peut affecter le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affectent les activités biologiques médiées par ces métabolites (**Lee et al, 2003**).

Il est observé aussi qu'à 40 °C le taux des flavonoïdes est plus élevé que celui de 60 °C, alors que les CPT atteignent un maximum à 60 °C, suggérant que d'autres CPT autres que les flavonoïdes sont extraits à cette température. Ce résultat est conforme à celui de **Ma et al. (2009)** qui ont observé une réduction du rendement d'extraction des composés phénoliques et en un temps d'extraction plus long et à des températures plus élevées. C'est probablement dû aux réactions thermiques de dégradation ou de polymérisation des phénols elles-mêmes. Une augmentation de la température diminue la solubilité des gaz dans les liquides, et augmente la tension de vapeur du solvant, donc le seuil de cavitation est abaissé (**Izella, 2009**). Cependant il est prouvé qu'une augmentation de la température diminue l'efficacité des ultrasons. Dans la pratique en présence de ces effets antagonistes, on observe une température optimale. Il a été constaté que le rendement maximum d'extraction a été réalisé aux températures significativement différentes pour chaque composé dans la matrice. En général, l'augmentation de la température d'extraction augmente le transfert de masse. Néanmoins, l'augmentation de la température produit moins d'énergie de cavitation due à la diminution de la tension superficielle et à l'augmentation de la pression de vapeur (**Kuijpers et al, 2002**).

Plusieurs paramètres peuvent aussi affecter la stabilité des flavonoïdes La lumière, le pH, la température, la nature du solvant, la présence d'enzymes, d'oxydants et la présence d'ions métalliques favorisent la dégradation des flavonoïdes (**Medjadji, 2012**).

V-5 Evaluation de l'activité anti-oxydante (test d'ABTS) :

Afin de valider l'efficacité anti-oxydante liée à la présence de composés phénoliques totaux, nous avons évalué cette activité via le test ABTS dans la même fourchette des températures idéales d'extraction des composés phénoliques (40-60 °C), sur les mêmes extraits obtenues par EAU à 30 min (**Figure 15**), les résultats sont illustrés par la figure et le tableau suivants :

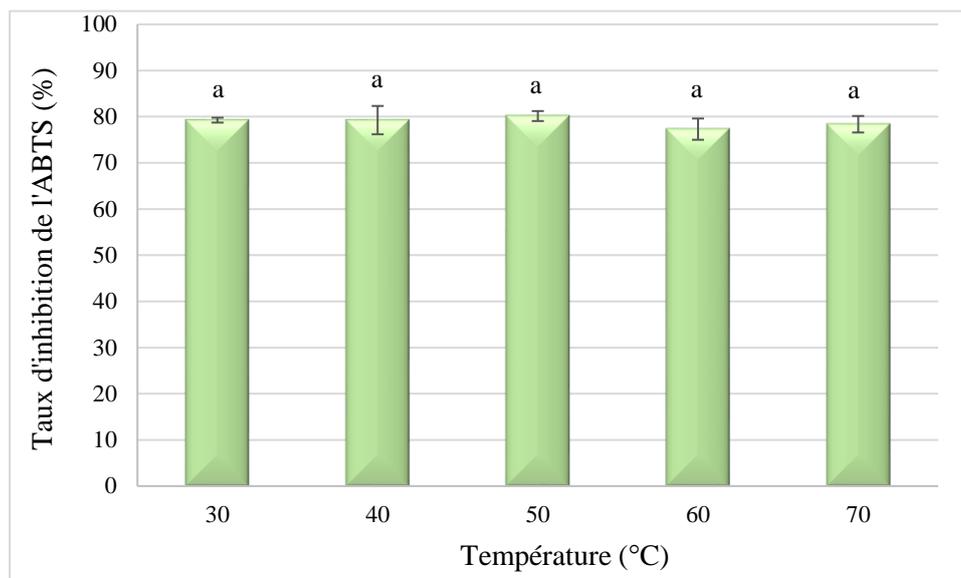


Figure 18. Pourcentage d'inhibition de l'ABTS en fonction de différentes températures. Les différentes lettres indiquent que les échantillons sont significativement différents ($p < 0,05$).

Tableau 7. Capacités anti-oxydantes de l'extrait d'OFI Bir-Essalam comparées à celles du Trolox (CAET) à différentes températures

Température (°C)	Résultat en mg CAET/g MS
30	2.454 ± 0.04
40	2.454 ± 0.22
50	2.520 ± 0.07
60	2.313 ± 0.16
70	2.380 ± 0.13

Il est clair que l'ordre des valeurs CAET est le même que celui du pourcentage d'inhibition de l'ABTS. D'après les résultats, il n'existe pas de différence significative entre les taux d'inhibition obtenus entre 30 à 70 °C (**Figure 18**), bien qu'à la température de 50 °C l'extrait présente le taux d'inhibition (80.14 ± 1.07 %) et le CAET (2.52 ± 0.07 mg ET/g MS) les plus élevés. Aussi, une bonne corrélation ($r^2 = 1$) existe entre le taux d'inhibition et les valeurs CAET.

L'activité anti-oxydante observée peut être due au fait que notre plante contient différents types de composés phénoliques, d'ailleurs le taux des CPT élevés à 40, 50 et même 60 °C (**Figure 15**), et les taux élevés des flavonoïdes entre 30 et 50 °C (**Figure 17**) pourraient expliquer les taux d'inhibition obtenus dans cette marge de température.

Beaucoup d'études montrent que les propriétés anti-oxydantes d'un produit végétal sont fortement liées à sa teneur en polyphénols (**Das et al, 1997 ; Cai et al, 2004 ; Marchszak et al, 2004 ; Zujkoet al, 2005 ; Pellegrini et al, 2003 ; Li et al, 2007 ; Aochima et al, 2007**). Ces derniers sont doués d'un grand potentiel antioxydant, et agissent comme donneurs

d'hydrogène ou d'électron (Kaur et Kapoor, 2002). Cai et al, (2004) ont montré une forte corrélation entre la teneur en composés phénoliques totaux estimé par Folin-Ciocalteu et l'activité anti-oxydante estimé par la méthode ABTS.

Cependant, dans notre cas, les résultats suggèrent une participation d'autres composés non recherchés dans ce présent travail comme les polysaccharides vu qu'à 70 C le taux d'inhibition reste élevé alors que les taux des CPT et des flavonoïdes sont relativement faible. Ceci nous a induit à faire des analyses infrarouges de l'extrait en question (Section V-9). Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que ces composés réparent différemment dans l'analyse, et que les composés phénoliques n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans l'extrait (Athmena et al, 2010). Il est difficile d'expliquer la relation entre les antioxydants et l'activité anti-oxydante d'un végétal en se basant sur la seule analyse quantitative, du fait qu'il existe une relation non seulement avec le taux d'antioxydants mais aussi de l'interaction entre eux et avec d'autres constituants (Yoo and ak., 2008), aussi la composition chimique et les structures des composés actifs de l'extrait peuvent moduler l'efficacité de l'activité anti-oxydante (Soufi, 2008).

V-6 Comparaison des teneurs en composés phénoliques totaux entre les espèces du genre *Opuntia* et entre région de collecte :

Les conditions optimales d'extraction obtenues en EAU (Temps 30 min, Température 60 °C) avec l'extrait d'OFI Bir-Essalam ont été appliquées aux extraits de cladodes des trois espèces d'*Opuntia* (Tableau 5, page 22). Le résultat du dosage des polyphénols totaux est présenté dans la Figure 19 :

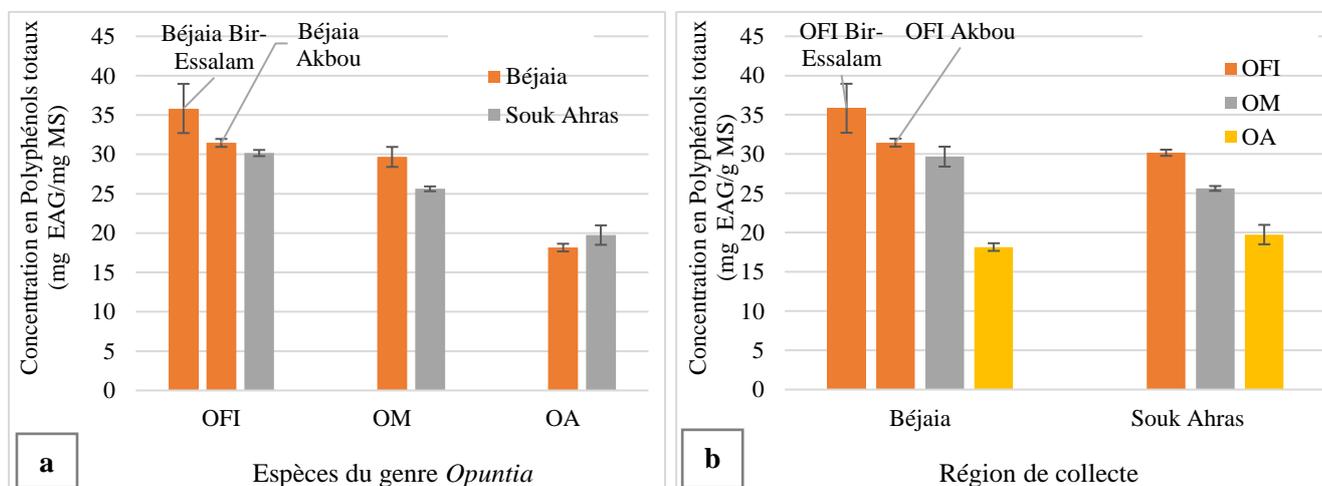


Figure 19. Comparaison des teneurs en polyphénols entre les trois extraits des différentes espèces (a) et entre les régions de collecte (b)

Il ressort de ces deux histogrammes que la valeur la plus élevée en composés phénoliques a été enregistrée pour l'extrait d'*Opuntia ficus indica* (OFI), suivit d'une valeur moyenne pour l'extrait d'*Opuntia megacantha* (OM), puis une plus faible valeur pour l'extrait d'*Opuntia amyclae* (OA) peu importe la région de collecte. Pour la figure de gauche, ces valeurs sont de 35.83 ± 3.12 mg EAG/g MS, 29.67 ± 1.27 mg EAG/g MS et 18.15 ± 0.48 mg EAG/g MS, respectivement.

Nous avons aussi remarqué que la teneur en polyphénols d'OFI Bir-Essalam est plus élevée à celle d'OFI du site d'Akbou, en plus d'être supérieur à celle de Souk Ahras, où les concentrations sont respectivement : 35.83 ± 3.12 mg EAG/g MS, 31.45 ± 0.5 mg EAG/g MS, 30.16 ± 0.4 mg EAG/g MS. De plus la teneur en polyphénols de l'extrait d'OM de la région de Bejaia est supérieure à celle de la région Souk Ahras avec les concentrations respectives de 29.67 ± 1.27 mg EAG/g MS et 25.61 ± 0.3 mg EAG/g MS. En revanche, on note une similarité relative des concentrations dans les extraits de raquettes d'OA issus des deux régions de la collecte.

A la lumière de ces résultats, nous constatons que pour les mêmes espèces se trouvant dans différentes communes de la même région peuvent avoir une composition phytochimique différentes (cas d'OFI Bir-Essalam et Akbou). Donc le site de culture pourrait influencer la teneur en composés phénoliques (exception faite pour OA) (**Figure 19.a**), mais il est sans effet sur la composition en CPT entre espèces (ordre décroissant des teneurs : OFI puis OM puis OA peu importe la région) (**Figure 19.b**).

La différence des teneurs en polyphénols entre les espèces est due à l'influence de plusieurs facteurs, en effet des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques à savoir, les facteurs géographique et climatiques, les facteurs génétiques, l'âge de la plante et la durée du stockage, ont une forte influence sur le contenu en composés phénoliques (**Cheurfa et Allem, 2016**). Sans oublier la méthode de préparation des échantillons qui diffère légèrement pour les trois espèces.

Un travail sur la diversité phénotypique d'*Opuntia ficus indica* (L.) Mill en Algérie montre qu'il existe des variations entre les espèces au niveau des épines et des aréoles qui semblent être une réponse aux variations climatiques (**Adli et al, 2015**). Cependant, la présence et l'absence d'épines chez les différentes espèces, entre autres différences (**Tableau 1, page 6**), affecte le taux des CPT sans que l'origine géographique ne soit impliquée. Sachant que l'OFI montre les valeurs les plus élevées et que c'est une espèce inerme.

Astello-Garcia et al, (2015) ont montré que l'OFI contenait plus de CPT que l'espèce OM, ce qui est conforme avec nos résultats, bien que l'OM possède un taux plus élevé de polysaccharides (en terme d'interférence) que l'OFI dans la même étude.

V-7 Comparaison des teneurs en Flavonoïdes totaux entre les espèces du genre *Opuntia* et entre région de collecte :

Le dosage des flavonoïdes a été effectué sur les mêmes extraits obtenus après EAU avec les mêmes conditions citées pour le dosage de CPT. Les résultats sont présentés en **Figure 20**.

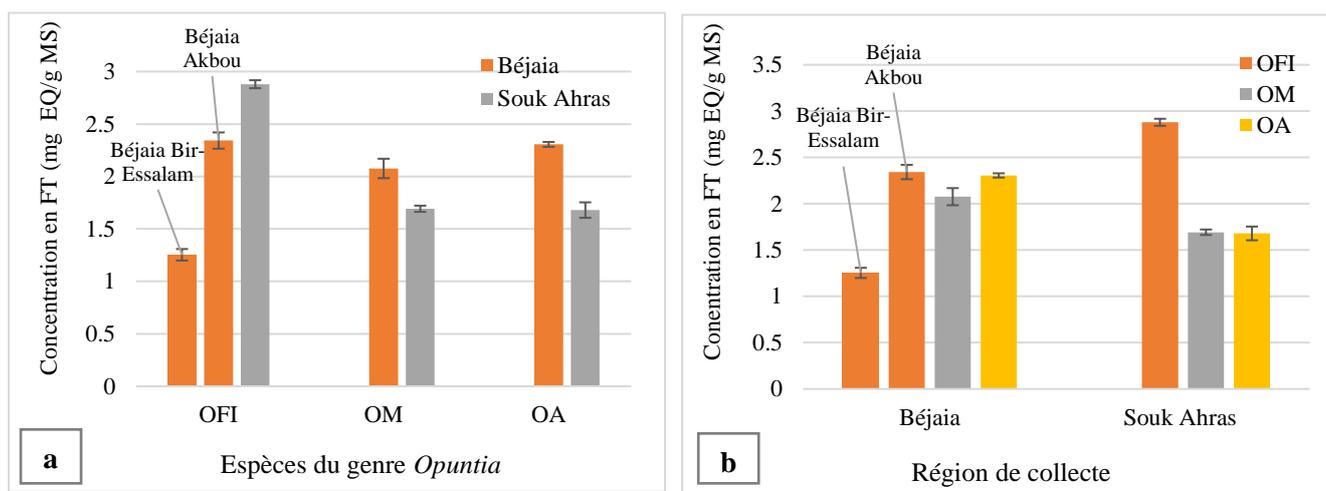


Figure 20. Comparaison des teneurs en flavonoïdes entre les trois extraits des différentes espèces (**a**), et entre les régions de collecte (**b**), EAU à 60 °C.

Nous remarquons que la teneur la plus élevée en flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait OFI Souk Ahras (2.87 ± 0.03 mg EQ/g MS), suivit de l'extrait d'OA Béjaia (2.30 ± 0.02 mg EQ/g MS) et de l'extrait OM Béjaia (2.07 ± 0.09 mg EQ/g MS).

La comparaison des flavonoïdes dans les différents extraits d'*Opuntia*, a montré que l'espèce OFI est la plus riche en flavonoïdes totaux, excepté pour l'échantillon de Bir-Essalam qui a pourtant montré le taux de CPT le plus fort (résultat déduit et discuté en **Section V-4**).

Comme fait pour OFI Bir-Essalam (section V-4) et voyant la sensibilité des flavonoïdes à la température de 60 °C, le dosage a été effectué aussi à 40 C pour le reste des extraits (**Figure 21**).

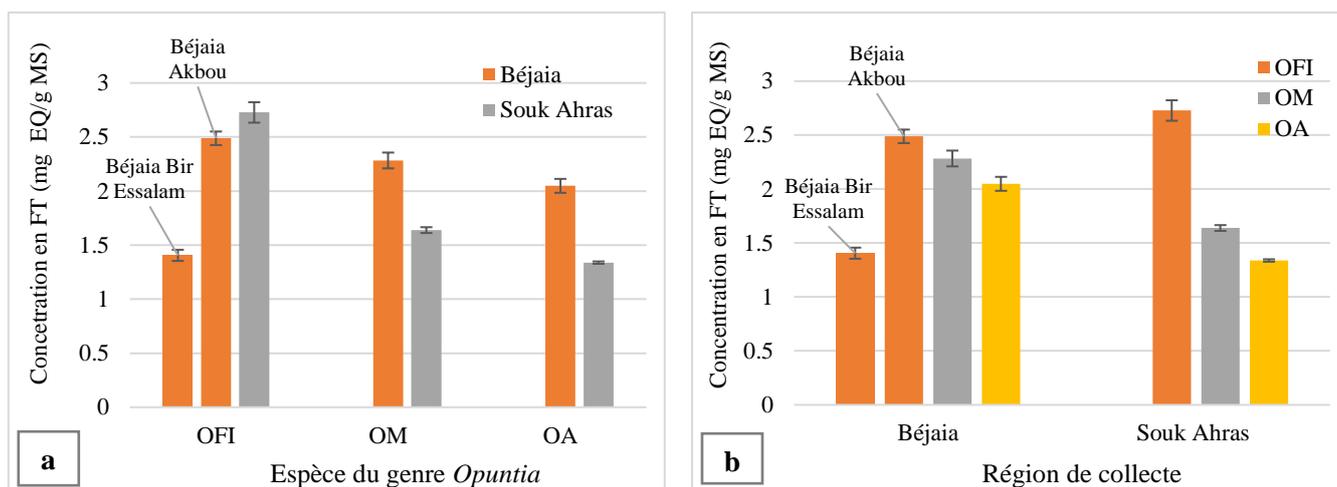


Figure 21. Comparaison des teneurs en flavonoïdes entre les trois extraits des différentes espèces (a), et entre les régions de collecte (b), EAU à 40 °C.

En appliquant une température de 40 °C, nous retrouvons généralement la même tendance que celle du dosage des CPT : nous remarquons que l'extrait d'OFI renferme une teneur élevée en flavonoïdes (2.72 ± 0.09 mg EQ/g MS), exception faite pour OFI Bir-Essalam, suivit de celle de l'extrait d'OM (2.28 ± 0.07 mg EQ/g MS), puis vient celle de l'extrait d'OA (2.04 ± 0.06 mg EQ/g MS) (**Figure 21.a**).

En ce qui concerne les effets des températures appliquées, nous constatons que la température 40 °C a permis une amélioration des teneurs en flavonoïdes des espèces de la région de Béjaia excepté pour OA (2.48 , 2.28 et 2.04 mg EQ/g MS par rapport à ceux de 60 °C de 2.34 , 2.07 et 2.3 mg EQ/g MS pour OFI Akbou, OM et OA dans l'ordre). Tandis que ces valeurs sont légèrement mieux pour celles de Souk Ahras à 60 °C excepté pour OA (2.88 , 1.69 et 1.67 par rapport à ceux de 40 °C de 2.72 , 1.63 et 1.33 mg EQ/g MS pour OFI Akbou, OM et OA dans l'ordre). Ceci pourrait suggérer une meilleure adaptation à la chaleur des espèces d'OFI de Souk Ahras. Il est donc important de maîtriser le paramètre de la température afin de garantir un processus d'extraction efficace en rendement d'extraction.

En comparant entre les espèces on distingue aussi que l'espèce OFI Souk Ahras est plus riche en flavonoïdes quand extraits à 60 °C, suivi de celle d'Akbou quand les flavonoïdes sont extraits à 40 °C. **Astello-Garcia et al, (2015)** ont rapporté que l'OFI dépassait légèrement l'OM en teneurs de flavonoïdes.

V-8 Comparaison entre les activités anti-oxydantes entre les espèces du genre *Opuntia* et entre région de collecte :

Le test ABTS a été effectué sur les extraits des trois espèces après EAU à 30 min et à 60 °C seulement. Les résultats sont illustrés en **Figure 22**.

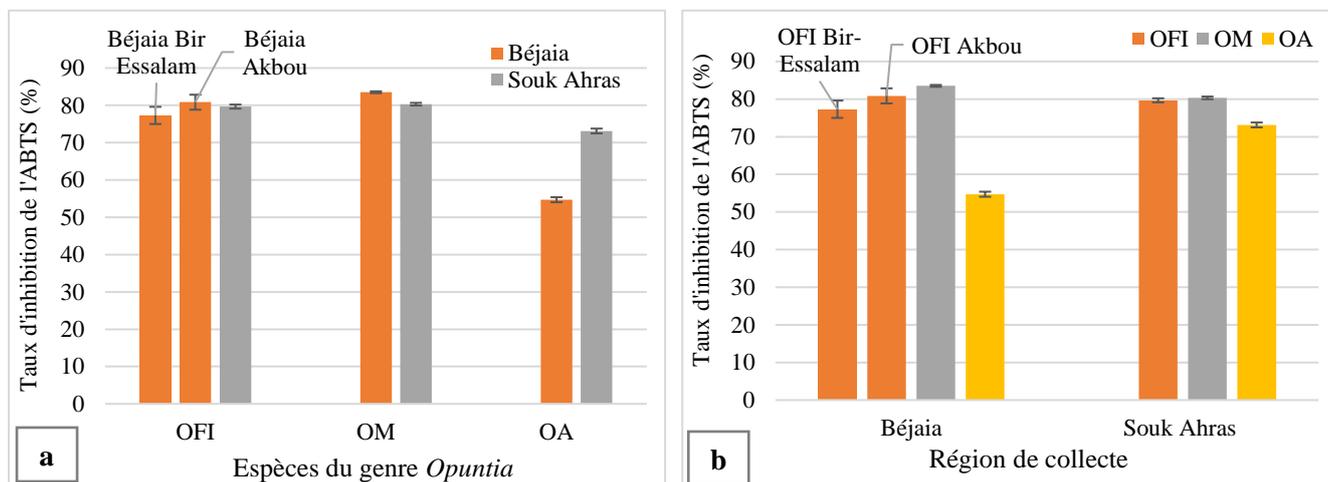


Figure 22. Comparaison des activités anti-oxydantes entre les trois extraits des différentes espèces (a), et entre les régions de collecte (b).

D'après la **Figure 22.a**, comme pour le résultat des CPT (**Figure 19**) les espèces OFI et OM montre généralement les taux d'inhibition d'ABTS les plus élevés suivis par l'espèce OA. Ceci est cohérent avec les résultats de flavonoïdes mesurés à 40 °C (**Figure 21**) à l'exception d'OA. Dans une étude comparative entre 5 espèces d'*Opuntia* OFI et OM ont montré les mêmes capacités anti-oxydantes (**Astello-Garcia et al, 2015**).

Nous remarquons aussi qu'il n'y a pas de grande différence entre les activités anti-oxydantes des espèces OFI et OM pour les deux régions (80.85 ±2, 83.51 ±0.25 % pour OFI et OM de Béjaia, et 79.66 ±0.54 et 80.31 ±0.35 % pour Souk Ahras dans l'ordre) (**Figure 22.b**), sauf pour l'espèce OA où le taux d'inhibition est plus élevé à Souk Ahras (73.12 ±0.65 %) que celui de Béjaia (54.71 ±0.67 %). Ceci est cohérent avec le résultat des CPT de cette espèce (**Figure 19**). Il se peut que de faibles doses de CPT reflètent mieux le taux d'inhibition de ces derniers, et que la présence d'autre antioxydant interfère avec l'activité anti-oxydante.

Tandis que les deux espèces OFI et OM qui présentent dans l'ordre des valeurs de CPT élevées (**Figure 19**), pourraient expliquer les taux d'inhibition plus élevés que ceux de l'OA. Cependant avec une moindre cohérence, ceci a également été observé et discuté pour l'espèce OFI Bir-

Essalam (Section V-5). Les valeurs CAET des extraits sont cohérentes avec les taux d'inhibition et sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 8. Capacités anti-oxydantes des extraits comparées à celles du Trolox (CAET).

Espèces d' <i>Opuntia</i>	Résultat en mg CAET/g MS
OFI Béjaia, Bir slam	2.313 ± 0.16
OFI Béjaia, Akbou	2.570 ± 0.24
OFI Souk Ahras	2.505 ± 0.04
OM Béjaia, Amizour	2.763 ± 0.06
OM Souk Ahras	2.531 ± 0.02
OA Béjaia, Oued-ghir	0.671 ± 0.2
OA Souk Ahras	2.00 ± 0.13

Au final, bien que l'espèce OFI présente les taux les plus forts des CPT et des Flavonoïdes on constate qu'il y a plus de cohérence entre les valeurs de CPT avec ceux des flavonoïdes à 40 °C et les valeurs des CPT avec les taux d'inhibition de l'ABTS pour les extraits de poudres données par Mr. MAHDEB (OFI Akbou et Souk Ahras, OM et OA des deux régions) que pour OFI Bir-Essalam, aussi le taux des flavonoïdes est plus faible chez OFI Bir-Essalam. Ceci est peut-être dû à la durée de séchage qui était de 12 jours pour cette espèce et de deux jours pour les autres extraits, sachant que les CPT et en particulier les flavonoïdes sont très sensibles au facteur température. Aussi, seule la poudre d'OFI Bir-Essalam, qui a montré le taux le plus élevé en CPT, a une granulométrie de 250 µm par rapport aux autres (200 µm), il est connu que la taille des particules affecte l'extraction par EAU.

V-9 Analyse infrarouge :

Les spectres infrarouges obtenus sont présentés dans les **Figures 1 et 2 en Annexe IV**. Les spectres IRTF de 500 à 4000 cm⁻¹ et de 200 à 1800 cm⁻¹ des 3 extraits analysés respectivement poudreux et liquides (OFI Bir-Essalam, OFI Souk Ahras, OM et OA de Béjaia) ont été utilisés pour obtenir des informations sur la nature des groupements fonctionnels.

Les spectres présentés en **Figure 1** montrent : des bandes larges et fortes dans l'intervalle de 3647-3000 cm⁻¹ qui est due à la présence des groupes OH caractéristiques des polyphénols et des carbohydrates.

Selon **Barka et al, (2013)** les bandes larges et superposées, autour de 3600-3200 cm⁻¹, peuvent être dues au chevauchement des vibrations d'étirements O-H et N-H. Les bandes d'absorption à 2921 et à 2843 cm⁻¹ sont due à la vibration d'étirement asymétrique du CH₂ et à la vibration d'étirement symétrique du CH₃, respectivement des acides aliphatiques (**Farinella et al, 2007**). La bande d'absorption autour de 1606 peut être due à la vibration d'élongation de la liaison C=C des acides aromatiques. La bande d'absorption à 1614 peut être due à la vibration

d'élongation de la liaison C=O des cétones. Le pic à environ 1650 est dû à l'étirement asymétrique de la double liaison carboxylique COO⁻ des groupes fonctionnels carboxylates déprotonés (**Farinella et al, 2007**).

Le pic à 1432 cm⁻¹ est celui de l'étirement phénolique –OH (**Barka et al, 2013**). Les pics observés à 1370 cm⁻¹, reflètent les vibrations d'étirement de groupes carboxyliques ioniques symétriques ou asymétriques (- COOH) de pectines (**Farinella et al, 2007**).

Les pics observés à 1379 et à 1313 cm⁻¹ prouvent la réapparition des groupes OH des phénols et/ou la présence des groupes OH de l'alcool tertiaire. Le pic à 1382 cm⁻¹ peut être dû à la présence du groupe CH₃ des alcanes (déformation dans le plan symétrique). Les pics à 1309 cm⁻¹ peuvent être due à la présence des composés de l'azote de la classe des composés nitro-aromatiques.

Les pics à 1236 cm⁻¹ peuvent être dus à la vibration d'élongation de la liaison C=C des alcanes. La bande entre 1055-1070 cm⁻¹. La bande à 1035 cm⁻¹ pourrait être due à la vibration de -C-O-C et du OH de polysaccharides (**Ibarra and Moliner, 1991**). Les pics entre 1220 à 1020 cm⁻¹ peuvent être dus à la vibration d'élongation de la liaison C-O de l'alcool primaire et à la vibration d'élongation de la liaison C-N des amines aliphatiques. Les pics à 1254 et 1033 cm⁻¹ sont dus à l'étirement vibration des cétones, aldéhydes et lactones ou des groupes carboxyles (**Chandrasekhar et al, 2006**).

Les pics 1050-1000 cm⁻¹ peuvent être dus à la vibration d'élongation de la liaison C-O (éther)

Le pic à 914 est peut être dû à la présence de la liaison C-H des alcènes.

Le pic à 902 cm⁻¹ et les pics entre 770-740 cm⁻¹ correspondent à la liaison =CH. Le pic clairement présent chez OFI Bir-Essalam à 875 cm⁻¹ à une déformation hors du plan des liaisons =C-H existantes dans les composés aromatiques.

Concernant la **Figure 2** il faut préciser que l'interprétation de l'analyse d'extrait liquides reste parfois arbitraire et/ou relative, vu le manque d'articles là-dessus. Les spectres FTIR illustrés en **Figure 2** montrent des bandes superposées, larges et moyenne à forte alentours 1580-1490 cm, ce qui pourrait refléter une déformation dans le plan de la liaison N-H appartenant à la classe des amines secondaires. Les spectres des extraits liquides présentes des pics autour de :

- 1360 à 1310 cm⁻¹ peuvent être attribués à la vibration d'allongement de la liaison C-N des amines aromatiques (amines tertiaires) ;
- 1380 à 1280 cm⁻¹ peuvent être dus à la déformation dans le plan de la liaison O-H des acryliques (acides carboxyliques RCOOH) ;

- 1350 à 1260 cm^{-1} peuvent être dus à une déformation dans le plan de la liaison O-H existante dans les alcools primaires (alcools et phénols ROH) ;
- 1350 à 1280 cm^{-1} peuvent être accordés à la vibration d'élongation des liaisons C-N des amines aromatiques (amines secondaires).
- 910 à 835 cm^{-1} peuvent être attribués à une déformation hors du plan des liaisons =C-H existantes dans les composés aromatiques.

Le spectre de l'extrait liquide d'OA Bejaia montre des pics autour de 860 à 800 et 910-835 cm^{-1} qui peuvent être dus à la déformation du plan des liaisons =C-H présentes dans les composés aromatiques. Les pics dans la région des nombres d'ondes inférieurs à 800 cm^{-1} pourraient être attribués aux bioligands contenant de l'azote (**Barka et al, 2013**). L'extrait liquide d'OFI Bejaia Bir-Essalam expose deux pics de 600 à 500 cm^{-1} qui peuvent désigner la présence de composés halogènes particulièrement, la classe Bromée.

Il est clair de la **Figure 1** principalement que l'espèce OFI Bir-Essalam est plus riche en groupements fonctionnels, ceci est expliqué par la présence de bandes d'absorption intenses et souvent plus larges, surtout dans l'intervalle de 1000 à 1500 cm^{-1} correspondant entre autres aux polyphénols. Toutefois, les quatre spectres montrent clairement la nature phénolique de toutes les poudres analysées. Ces résultats indiquent que les cladodes contiennent une grande variété de groupements fonctionnels (carboxyle, hydroxyle, sulfate, phosphate, aldéhydes, cétones...) caractéristiques de divers biomolécules. Cette richesse des poudres en biomolécules est certainement à l'origine des cas d'incohérence entre les teneurs en CPT obtenus et les activités anti-oxydantes correspondantes.

Conclusion

Dans un contexte général de valorisation du figuier de Barbarie et notamment les produits qui en sont dérivés, qui ne sont pas valorisés comme ils devraient l'être en Algérie, nous nous sommes intéressés aux cladodes de la figue de Barbarie, tout en essayant d'apporter les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques qu'elles contiennent.

Pour une extraction efficace des polyphénols de la poudre de cladode d'OFI, en résumant les différentes étapes d'extractions menées sous différentes conditions, certaines conclusions s'imposent :

- ❖ L'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement ; vu qu'avec l'éthanol à 50% l'extraction est améliorée
- ❖ L'extraction assistée par ultrasons est la meilleure méthode pour l'extraction des CPT ;
- ❖ Le temps d'extraction optimal des composés phénoliques est de 30 min ;
- ❖ La température optimale pour l'extraction des composés phénoliques est de 60 °C en général, et elle est de 40 °C pour les flavonoïdes. Ce paramètre est en relation étroite avec le temps d'extraction ;

Cette étude nous a permis d'une part d'optimiser et d'évaluer la teneur en composés phénoliques, spécialement celle des flavonoïdes totaux, et d'évaluer l'activité anti-oxydante. Mais aussi de comparer ces paramètres entre trois espèces du genre *Opuntia* (OFI, OM et OA) de différentes régions. Les différents dosages réalisés sur les poudres ont révélé la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes. Les extraits de ces poudres manifestent une activité anti-oxydante par le test de l'ABTS.

D'après les résultats on peut dire que les extraits de poudres marquent une différence de teneur en polyphénols et flavonoïdes entre elles quel que soit la région, et que le site de culture pourrait influencer la composition des cladodes du figuier de Barbarie pour une seule espèce dans la même région, et par conséquent le pouvoir antioxydant.

La richesse des poudres en composés bioactifs observée par analyse Infrarouge, est certainement à l'origine des cas d'incohérence entre les teneurs en CPT obtenus et les activités anti-oxydantes correspondantes. Toutefois, elle rend compte également qu'elles constituent une attrayante source de métabolites secondaires qui serviront à différentes applications industrielles.

En termes de perspectives et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- ❖ D'étudier d'autres facteurs et conditions qui pourraient influencer l'optimisation de l'extraction des CPT tels que le pH, la fréquence des Ultrasons, mais aussi les facteurs écologiques qui pourraient éventuellement améliorer le rendement de l'extraction ;
- ❖ Optimiser les conditions d'extraction des CPT séparément pour chacune des espèces étudiées ;
- ❖ D'utiliser des techniques d'analyse avancées (HPLC, RMN...etc) pour mieux quantifier et identifier les antioxydants ;
- ❖ D'utiliser plusieurs tests pour évaluer l'activité anti-oxydante ;
- ❖ De faire une étude *in vivo* pour vérifier l'efficacité des antioxydants dans l'organisme et de démontrer la possibilité et le mode de son utilisation thérapeutique ;
- ❖ D'étudier les activités anti bactériennes, notamment sur des espèces pathogènes ;
- ❖ D'utiliser des méthodes sophistiquées afin de séparer les composés phénoliques des polysaccharides présents en fortes proportions dans la poudre des cladodes d'OFI.

Liste des Références

A

- Aberkane M.C. 2006.** Etude phytochimique de la plante *Pulicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Université de Batna. 167p.
- 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.
- Adli B.A., Boutekrabt M., Touati T., Bakria A., Touati E and Bezini. 2015.** Phenotypic diversity of *Opuntia ficus indica* (L.) MILL. in the Algerian steppe. South African Journal of Botany, 109 (2017): 66–74.
- Adjeroud N., Dahmoune F., Merzouk B., Leclerc J.-P., Madani K. 2015.** Improvement of electrocoagulation–electroflotation treatment of effluent by addition of *Opuntia ficus indica* pad juice. Separation and Purification Technology 144: 168-176.
- Adjeroud N., Elabbas S., Merzouk B., Hammoui Y., Felkai-Haddache L., Remini H., Leclerc J.P., Madani K., 2018.** Effect of *Opuntia ficus indica* mucilage on copper removal from water by electrocoagulation-electroflotation technique. Journal of Electroanalytical Chemistry.
- Alcantar N. 2010.** Removal of sediment and bacteria from water using green chemistry. Environ. Sci. Technol. 44, 3514–3519.
- Allai L., Karym E. M., El Amiri B., Nasser B., Essamad A., Terzioğlu P., Ertas A and Öztürk M. 2017.** Evaluation of Antioxidant Activity and phenolic composition of *Opuntia ficus-indica* Cladodes Collected from Moroccan Settlat Region Eurasian .Journal of Analytical Chemistry ISSN: 1306-3057 2017, 12:105-117 DOI 10.12973.
- Al Mostafa K., El Kharassi Y., Badreddine A., Andreoletti P., Vamecq J., El Kebbaj M.S., Latruffe N., Lizard G., Boubkar Nasser and Cherkaoui-Malki M. 2014.** Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for Nutrition, Health and Disease, Review, 19, 14879-14901; doi : 10.3390/ molecules 19091 4879.
- Andres A. and Donovanb S.M. Kuhlenschmidtc M.S. 2009.** Soy isoflavones and virus infections. Journal of Nutritional Biochemistry, 20 :563-569.
- Anthonie J. (2007).** Synthèse enzymatique, modélisation moléculaire et caractérisation d'oligomères de flavonoids. Thèse de doctorat. Institu National Polytechnique de Lorraine. 210p.
- Angulo-Bejarano P.I., Martínez-Cruz O., and Paredes-López 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.
- Araba A., Elaich A., Sarti B., Belbahri Z., Boubkraoui A., Ait Hammou A., Zemmoui A., et Sbaa H. 2000.** Valorisation de figuier de barbarie en élevage. Transfert de technologie en Agriculture, 68 :1-4.

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

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

Aron P.M. and Kenedy J. 2008. "Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity", Mol Nutr Food Res, Vol. 52 n°1. 79-104.

Astello-Garcia M.G, Cervantes I., Nair V., Santos-Diaz M.S., Reyes-Aguero 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.

Athamena. Chalghen I. Kassah. Laouar A. Laroui S. et khebri S. 2010. Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extrait de *Cuminum Cyminum* L. Lebanese Science journal, 11 : 69-81.

Aoshima H. Hirata S. and Ayabe S. 2007. Antioxidative and anti-hydrogen peroxide activities of various herbal teas. Food Chemistry, 103: 617-622.

Aybaster Ö., Isjik E., Şahin, S., Demir C., 2013. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from blackberry leaves using response surface methodology. Ind. Crops Prod. 44, 558–565.

B

Barbera G., Inglese P., & Pimienta- Barrios E. 1995. Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear: Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.

Barka N., Ouzaouit K., Abdennouri M., El Makhfouk M. 2013. Dried prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes as a low-cost and eco-friendly biosorbent for dyes removal from aqueous solutions. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 44: 52–60.

Bayar N., Bouallegue T., Achour M., Kriaa M., Bougateg A., Kammoun R. 2017. Ultrasonic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal: Optimization of experimental conditions and evaluation of chemical and functional properties. Ultrasonic pectin extraction from prickly pear cladodes Food Chemistry (235) 275-282.

Benattia F.K. (2017). Analyse et application des extraits de pépins de figue de Barbarie. Thèse de doctorat en chimie. Faculté des sciences. Université Aboubekr Belkaid- Tlemcen. 152p.

Benbrook C.M. (2005). Accroître la teneur en antioxydant des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologique. The Organic Center : 1-87.

Boizot N., Charpentier J-P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de INRA, Numéro

spécial 2006 : Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers. Parairiaux et aquatiques .pp.79-82.

Bouaouine O., Bourven1 I., Khalil F., Baudu M. 2018. Identification of functional groups of *Opuntia ficus-indica* involved in coagulation process after its active part extraction. Environmental Science and Pollution Research, (25) 11111-11119.

Bourgou S. Serairi Beji R. Medini F. et Ksouri R. 2016. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydnates d'Euphorbiahelioscopia. Journal of new science, Agriculture and Biotechnology, 28 (12) : 1649-1654.

Boutakiout A. 2015. Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode du figuier de barbarie marocain (*Opuntia ficus -indica* et *Opuntia megacantha*) .Thèse de doctorat, Université d'Angers(France) et Université de Sultan Moulay Slimane (Maroc). 169pp.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tech & Doc, Lavoisier. pp. 1120.

Bruneton J. 2009. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition, Tech & Doc, Paris. pp.262.

Bruneton J. 2015. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Tech & Doc, Lavoisier. Paris. pp. 288.

Butera D., Tesoriere L., di Gaudio F., Bongiorno A., Allegra M., Pintaudi AM., Kohen R., livera M.A. 2002. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin .J.Agric.Food chem., 50, 6895-690.

Buttice A.L., Joyce M Stroot, Daniel V Lim, Peter G Stroot, and Norma A. 2010. Removal of sediment and bacteria from water using green chemistry. Environ. Sci. Technol. 44, 3514–3519.

C

Cai Y. Luo Q. Sun M. and Corke H. 2004. Antioxidant activity phenolic compound of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Science, 74: 2157-2184.

Carrera C., Ruiz-Rodriguez A., Plma, M, & Barroso C. G. 2012. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. Analytica Chimica Acta, 732: 100-104.

Castaneda-ovando A. Pacheco-Hernandez M.L. Elena Paez- Hernandez M.E. Rodriguez J.A. and Carlos Andrés Glan-Vida C.A. 2009.Chemical studies of anthocyanins: a review. Food chemistry, 113(4): 859-871.

Castillo S.L., Heredia N., Coutreras J.F. Garcia S. 2011. Extracts of edible and medicinal plants in inhibition of growth, adherence, and cytotoxin Production of *Campylobacter jejuni* and campylobacter coli. J. Food Sci,76: 421-426.

Chabrier J-Y. (2010). Plants Médicinales et formes d'utilisation en Phytothérapie. Thèse de doctorat. Université HENRI POINCARE-NANCY1. Faculté de pharmacie. 168p

Chandrasekhar S, Pramada PN. 2006. Rice husk ash as an adsorbent for Methylene Blue-effect of ashing temperature. Adsorption, 12: 27-43.

Chemat F. 2011. Eco-extraction du végétal procédés innovants et solvants alternatifs. Dunod, Paris.

Chemat F., Zill-e-Huma H., Khan MK. 2011. Ultrason Sonochem.18, 813-835

Chemat S., Lagha A., Ait Amar H., Bartels PV., Chemat F. 2004. Comparaison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from carway seed. Flavour and Fragrance journal. 19 : 188-195.

Chira K. Suh J.H. Saucier C., 2008. "Les polyphénols du raisin".6, France, 75-82.

Croteau R. Kutchan M.T. Lewis N.G. Buchanan B. Grissem W. and Jones R. 2002. Natural products (secondary metabolites) in Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Edition American society of plant physiologists. pp. 1250-1318.

D

Dahmoune F., Boulekbache L., Kamal Moussi K., Omar Aoun O., Giorgia Spigno G., Khodir Madani K. 2013. Valorization of *Citrus limon* residues for the recovery of antioxidants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. Ind. Crops Prod. 50, 77-87.

Das M., Vedasiromoni J.R., Chauhan S.P., Ganguly D.K. 1997. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on the rat diaphragm. J. Ethnopharmacol, 57: 197-201.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjma B., Boutassona D., Stocker P And vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem, 97: 654-660.

Dolatowski Z., J, Stadnik , J, Stasiak D; others. 2007. Applications of ultrasound in food technology. Acta Sci Pol, Technol. Aliment, 6 (3), 89-99

Draye M., Estager J., Malacria M., Goddad JP., Ollivier C. 2009. Sonochimie organique (K1250), Editions Techniques de l'ingénieur, France.

E

Ennouri M., Ammar I., Khemakhem B., Attia H. 2014. Chemical composition and Antibacterial Activity of *Opuntia Ficus-Indica F. Inermis* (cactus Pear) Flowers. J. Med. Food. 17, 908-914.

ESHUN HEQ. 2004. Aloe vera: valuable ingredient for, pharmaceutical and cosmetic industries-a review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr, 44, 91-96.

F

- Farinella N.V, Matos G.D, Arruda M.A.Z. 2007.** Grape bagasse as a potential biosorbent of metals in effluent treatments. *Bioresour Technol*, 98: 1940-6.
- Felice M.S .2004.** Prickly pear cactus *Opuntia* spp.- Aspine-tingling tale. *Weed Tech.* 18: 869-877.
- Felkai-Haddache L., Dahmoune F., Remini H., Lefsih K., Mouni L., Madani K. 2015a.** Microwave optimization of mucilage extraction from *Opuntia ficus indica* Cladodes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84 (2016) 24–30.
- Felkai-Haddache L., Remini H., Virginie Dulong V., Mamou-Belhabib K., Picton L., Madani K, Rihouey C. 2015b.** Conventional and Microwave-Assisted Extraction of Mucilage from *Opuntia ficus-indica* Cladodes: Physico-Chemical and Rheological Properties. *Food Bioprocess Technol*, 9: 481-492.
- Fernandez M.L., Trejo A., Mcnamara D. J. 1990.** Pectin isolated from Prickly pear (*Opuntia spp*) modifies low-density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *J.Nutr.* , 120, 1283-1290.
- Feugang JM., Konarski P., Zou D., Stintzing FC., Zou C. 2006.** Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia spp.*) cladodes and fruits. *Front Biosci.*, 11: 2574-89.
- Fliegman J. Furtwängler k. Malterer G. Cantarello C. Schuler G. Ebel J. and Mithofer A. 2010.** Flavone synthase II (CYP93B16) from soybean (*Glycine max* L). *Phytochemistry*, 71 : 508-514.
- Furhman B. Lavy A. and Aviram M. 1995.** consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low- density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am.j. Clin. Nutr.*, 61 :549-554.

G

- Gálvan D'Alessandro L. (2013)** . Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'aronia melanocarpa et ses co-produits. Lille1, 195p
- Garcia-castello E.M. Rodriguez-lopez A.D. Mayor L. Ballesteros R. Conidi C. and Cassano A. 2015.** Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. *LWT Food Sci. Technol*, 64 : 1114–1122.
- Garon D., et Guéguen J.C. 2014.** Biodiversité et évolution du monde végétal. France : EDP Sciences. 289p.
- George S., Brat P., Alter P., Amiot J.M. 2005.** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived product. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53, 1370-1373.

Guevara-Figueroa T., Jiménez-Islas H., Reyes-Escogido M.L., Mortensen A.G., Laursen B., Lin L.W., De León-Rodríguez A., Fomsgaard IS., Barba de la Rosa A.P. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp). *Journal of Food Composition and Analysis* 23 (6), 525-532.

Guinard J.L. 1979. Abrégé de biochimie végétale. 2ème édition. Masson. pp. 173-231.

H

Habibi Y. (2004). Contribution à l'étude morphologique ultra structurale et chimique de la figue de barbarie, les polysaccharides pariétaux : Caractérisation et modification chimique. Thèses de doctorat. Université Joseph Fourier. Faculté Science et Géographie (Grenoble I) et Université Cadi Ayyad. Faculté des Sciences (Semlalia, Marrakech), 201p.

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. 185

Handa SS. 2008. An Overview of extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plant. In *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants* (book). Editors: Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. International Centre for Science and High Technology, Trieste, Italy, pp. 21-54

Hanhineva K. Törrönen R. Bondia- Pons I. Pekkinen J. Kolehmainen M. Mykkänen H and Poutanen H. 2010. Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *Int. J. Mol. Sci*, 11: 1365-1402.

Harbone J.B. 1980. secondary plant products. *Encyclopedia of plant physiology*, Vol 8, Bell EA, Charlwood BV, eds Springer – verlag, Berlin. IN. pp. 329-402.

Harbone J.B. and Williams C.A. 2000. Advances in flavonoides research since 1992. *Phytochemistry*, 55 :481-504.

He F., Pan Q.H., Ying S., Chang-Qing D. 2008. "Biosynthesis and Genetic Regulation of proanthocyanidins in plants. *Molécules*", 13: 2674-2703.

Hein K.E. Tagliaferro A.R. and Bobilya D.J. 2002. Flavonoid antioxydants : chemistry, metabolism and structure- activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 :572-584.

Hennebelle T. Sahpaz S. et Bailleul F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3 – 6.

Herzi 2013. Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). 148p.

Hurtado-Fernando E. Gomez- Romero M. Carrasco- Pancorbo A. and Fernandez-Gutierrez A. 2010. Application and potentiel of capillary electroseparation methods to

determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53 :1130-1160.

I

Ibarra JV, Moliner R. 1991. Coal characterization using pyrolysis-FTIR. *J Anal Appl Pyrol* 1991; 20:171-84.

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

Inglese P., Mondragon C., Queretao J., Nefzaoui A., Saenz C., Taguchi., Makiko, Makkar H., Louhaichi M. 2018. Ecologie, culture et utilisation du figuier de Barbarie. ISBN 978-92-5-130344-3 (FAO).pp.14-16.

IZella S. (2009). Cavitation par excitation bi fréquentielle : application à la thrombolyse ultrasonore. Thèse de doctorat. École doctorale mécanique, génie civil & acoustique, 102p.

J

Jiri S., Marketa, Olga K. Petr S., Vojtech J., Libuse T., Ladislav H., Miroslava B., Josef Z., Ivo P. et Rene K. 2010. Fully Automated Spectrophotometric Protocols For Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molecules*, 15: 8618-8640.

K

Kadam S. u., Tiwari B.K., Alvarez, C., Donnell C.P.O. 2015. Ultrasound application for the extraction, identification and delivery of food Sci.Technol, 46: 60-67.

Kaur C. and Kapoor H.C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 153-161.

Khater F. (2011). Identification et validation de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la bio synthèse des composés phénoliques. Thèse de doctorat en biologie, faculté SNV.203p.

Knežević S.V. Blazekwic B. Stefan M.B. and Babac M. 2012. Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In "Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health. Edition Venketeshwer Rao.pp.155-180.

Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh,H., Grignon C., Abdelly C. 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch* ; 45, 244-249.

Kuhnle G.G.C. 2018. "Nutrition epidemiology of flavan-3-ols : The known unknowns", *Molecular Aspects of Medicine*, Vol 61: pp. 2-11.

Kuijpers MWA., Kemmere MF., Keurentjes JIF. 2002. Calorimetric study of the energy efficiency for ultrasound-induced radical formation. *Ultrasonics* 40: 675-678.

Kuti JO. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. Food Chem, 85: 527-33.

Kuttruff H. 1991. Ultrasonic .Fundamentals and Application. Elsevier Applied science, Londre, p.395-429.

ℒ

Lambert C. (2011). Étude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois. Thèse de doctorat en biologie, faculté SNV, université bordeaux 2.P202.

Laughton M.J. Evans P.J. Moroney M.A. and al. 1991. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. Biochem Pharmacol, 42(9) : 1673–1681.

Laugier F. (2007). Les ultrasons en proceed polyphasiques: transfert gaz-liquide et reaction liquid-liquide. Thèse de genie des proceeds et de l'environnement, l'Institut national polytechnique de Toulouse, 118p.

Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y. 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. J. Agric. Food Chem. pp.7292-7295.

Lefsih K., Delattre C., Pierre G., Michaud P., Aminabhavi T.M., Dahmoune F., Madani K. 2016. Extraction, Characterization and gelling behavior enhancement of pectins from the cladodes of *Opuntia ficus indica*. International Journal of Biological Macromolecules, 82: 645-652.

Lefsih K., Giacomazza D., Passantino R., Assunta Costa M., Bulone D., Mangione M.R., Guarrasi V., Mingoia F., San Biagio P.L., Madani K. 2018. Biochemical and biophysical characterization of water-soluble pectin from *Opuntia ficus-indica* and its potential cytotoxic activity. Phytochemistry, 154: 47-55.

Lehmann H. (2013). Le médicament à base de plante en Europe : Statut, enregistrement, contrôles : Université de Strasbourg .Faculté de pharmacie, 228p.

Leighton T.G. 2007. What is Ultrasound. Prog Biophys Mol Biol. 93: 3-83.

Li H Prodesino L, Weiss J .2004. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. Food Res Int 37: 731-738.

Li Y. Gong M. and Konishi T. 2007. Antioxidant synergism among component herbs of traditional Chinese medicine formula, ShengMai San studied in vitro and in vivo. Journal of Health Science, 53: 692-699.

Liu. Zhang L. and Lu S. 2012. Evaluation of antioxidant and immunity activtés of quercetin in isoproterenol-treated rats. Molecules, 17: 4281- 4291.

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 (4) : 352-359.

Luque-Garcia J., L. and M.D.Luque de Gastro. 2003. Ultrasound: A powerful tool for leaching. *Trends in Analytical chemistry* 22: 41-47.

Luthria D-I. Biswar R. and Savithiry N. 2007. Comparison of extraction solvents and techniques used the assay of isoflavones from soybean. *Food chemistry*, 105 :325-333.

M

Ma Y Q., Yex Q., Fang Z. X., Chen J.C., XU G.H, Liu D. H. 2008. Phenolic compounds and antioxidant activity of extract from ultrasonic treatment of Satsuma mandarin (citrus unshiu Marc) peels *Journal of Agricultural Food chemistry* 56, 5682-5690.

Ma Y., Chen J., Liu D & Ye, X. 2009. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts : Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(1), 57-62.

Macheix JJ., Fleuriet A., and Jay-Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.* p. 192.

Mahmoudi S. Khali M. and Mahmoudi N. 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Revue « Nature & Technologie ».* B- Sciences Agronomiques et Biologiques, 09: 35-40.

Majchrzak D. Mitter S. and Elmadfa 1. 2004. The effect of ascorbic acid on total antioxidant activity of black and green teas. *Food Chem*, 88 : 447-451.

Maoui M. 2014. Atlas : plants ornementales de ZIBAN. Edition CRSTRA, station de bio ressources EL outaya. 341p.

Marc F., Degléne-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M. 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine/ Science*, 20 : 458-463

Martin S. et Andrintsitohainia R. 2002. Mécanisme de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Journal Annale de cardiologie*, 51: 304-315.

Mason T., et Lorimer J. 1988. *Sonochemistry: Theory, application and uses of ultrasound in chemistry*, Ellis Horwood limited, . 32p.

Mawson R et Knoerzer K. 2007. A brief history of the application, of ultrasonics in food processing.

Medellin M.L.C., Salvidar S.O.S., De la garza J.V. 1998. *Arch. Latinoam. Nutr* ,48.pp.316-323.

Medina-Torres L., Vernon-Carter E. J., Gallegos-Infante J. A., Rocha-Guzman N. E., Herrera-Valencia E. E., Calderas F., & Jiménez-Alvarado, R. 2011. Study of the

antioxydant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes after convective drying. *J. Sci. Food Agric.*, 91:1001–1005.

Medina-Torres N. Ayora-Talavera T. Espinosa-Andrews H. Sánchez-Contreras A. and Pacheco N. 2017. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources, 19.

Medjadji M. (2012). Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de la fleur du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat. Faculté des sciences de la nature et de la vie et étude des sciences de la terre et de l'Univers. Université Abou Beker Belkaid Tlemcen, 78p.

Merghem R. 2009. Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine. pp. 107-133.

Middleton E. Kandaswami C. and Theoharides T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells : implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.

Mohammedi Z. and Atik F. 2011. Impact of solvent extraction type on total polyphénols content and biological activity from Tamrix aphylla (L) Karst. *Inter J pharma bio Scio*, 2: 209-615.

Moheb A. Ibrahim R.K. Roy R. and Sarhan F. 2011. Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. *Phytochemistry*, 72: 2294- 2307.

Murillo-Amador B., Troyo Diguez E., Nieto Garibay A., Aguilar Garcia M. 2002. El nopal : cultivo Forrajero sostenible para el noroeste de Mexico Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C., La Paz, Mexico.

N

Nanacy T. et Agnés A. 2014. Clloque viticulture et stress hydrique : impact du stress hydrique sur la qualité de la vendange, exemple des flavonoïdes. INRA SPO. 20p.

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 doctorat. Université de Badji Mokhtar .Anaba, 132p.

Nharingo T., Moyo M. 2016. Application of opuntia ficus-indica in bioremediation of waste waters. A critical review. *Journal of environmental managemant* 166, 55-72.

Nharingo T., Moyo M. 2016. Application of *Opuntia ficus indicain* bioremediation of wastewaters.A critical review, *J, Environ. Manage.* 166: 55-72

Nharingo T., Moyo M., 2016. Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review. *Journal of Environmental Management*, 166, 55-72.

Nijvelt R. Nood E. Honn D.E. Boelens P.G. Norren K. and Leeuwen.P. 2001. Flavonoid : Areview of probable mechanism of action and potential applications. *Am. J. Clin Nutr*, 74 : 418-425.

O

Odabas H. I., Koca I. 2016. Application of resonance surface methodology for optimizing the recovery of phenolic compounds from hazelnut skin using different of extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 91, 114-124.<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.033>.

Oumaya B. (2012). Potentialité thérapeutique d'*Opuntia ficus indica* au Maroc et en Tunisie. Thèse de doctorat. Faculté de médecine et pharmacie. RABT. Université Mohamed V SOUSSI. 109p

P

Pan Z. Qu W. Ma H. Atungulu G.G. and McHugh T.H. 2012. Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrason. Sonochem*, 19, 365–372.

Pareek OP, Singh RS Vashishtha BB. 2003. Performance of cactus pear (*Opuntia Ficus indica* (L) Mill). Clones in Hot Arid Region of India. *J. PACD* 2, 121-130.

Parisi D.I., Puoci F., Restuccia D., Lemma F., Picci, N. 2014. Polyphenols and Their Formulations : Different Strategies to Overcome the Drawbacks Associated with Their Poor Stability and Bioavailability. *Polyphehos Hum. Health Dis*, 4, 29-45.

Pellegrini N. Serafini M. Colombi B. Del Rio D. Salvatore S. Bianchi M. and Brighenti

Perry M. (2013). Herboristerie : Enquête sur les principales demandes a l'officine. Faculté de pharmacie, Université de LORRAINE, 134p

Petrier C., Gondrexon N et Boldo P. 2008. Les ultrasons et la sonochimie-Techniques de l'ingénieur. 1^{er} oct.

Pico Y. 2013. Ultrasound-assited extraction for food and environmental samples. *Tr AC Treuds Aral.Chem.*, 48: 84-99.

Pradal D. (2016). Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire. Tese de doctorat. Université Lille1. 216p

Prasad K.N., Yang E., C., Zhao M. & Jiang Y. 2009. Effects of high presure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10 : 155-159.

Prodromou M., Pashalidis I. 2013. Uranium adsorption by non-treated and chemically modified Cactus fibres in aqueous solutions. *J. Radioanal. Nucl.Chem.* 298, 1587-1595.

Proestos C., Sereli D., Komaitis M. 2006. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food Chem.* 95, 44–52.

Prouillac, C. (2006). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, 254p.

R

- 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.
- Rebereau-Gayon P. 1968.** Notion générale sur les composés phénoliques.IN : les composés phénoliques des végétaux.EditionDunod, 1-40.
- Reguieg Yssaad A. 2012.** Valorisation par voie biotechnologique de l'espèce *Opuntia ficus indica*.
- 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 (39) 395-408.
- Richter G. 1993.** Composés phénoliques. In « Métabolisme des végétaux : physiologie et Biochimie ». Edition Presses polytechnique et universitaires romandes. pp. 317-339.
- Rodriguez-Pérez C. Quirantes-Piné R. Fernández-Gutiérrez A. and Segura-Carretero A. 2015.** Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves.Ind. Crops Prod, 66 : 246–254.
- Romdhane M., Gourdon C. 2002.** Investigation in solid-liquid extraction: influence of ultrasound. Chem Eng j 87: 11-19.

S

- Sáenz C. 2013.** Agro-industrial utilization of cactus pear. FAO. Agricultural services of FAO.Rom, 162:4-30
- Sahin S. and Samli R. 2013.** Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. Ultrason. Sonochem, 20 : 595–602.
- Sanchez E., Garcia S., Heredia N. 2010.** Extracts of Edible and Medicinal Plants Damage Membranes of *Vibrio cholera*. Appl. Environ. Microbiol.76, 6888-6894
- Schweizer M. 1997.** Docteur Nopal, le médecin du Bon Dieu. Clamecy; Paris(France).Imprimerie Laballery,81p
- Selin Sahin, R.S. 2013.** Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound- assisted extraction with response surface methodology. Ultrason. Sonochem, 20, 595-602.
- Shirsath S.R., Sonawane S.H., Gogate P.R. 2012.** Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiation a review of current status. Chem. Eng. Process. Intensif, 53, 10-23
- Snyman H.A. 2006.** A green house study of root dynamics of cactus pears, *Opuntia ficus indica* O.robusta.Journal of Environments, 65: 529-542

Soufi O. 2008. Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antioxydante de la mure. Mémoire de magister. Université de Bejaia. P.50.

Stanley F. Wainapel MD. MPH. and Avital Fast MD. 2003. Antioxidants and the Free Radical Theory of Degenerative Disease. In : Alternative Medicine and Rehabilitation, Demos Medical Publishing, New York.

Stintzing F.C, Carle R. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp). A review on their chemistry, technology and uses. *Mol.Nutri.food*, 49, 175-194.

Su Y., Zhao H. 2003. Soil properties and plant species in an age sequence of *cargana microphylla* plantations in the Horqin Sandyland, North china. *Ecological Engineering*, 20, 223-235.

Suhaj M. 2006. spice antioxydants isolation and their antiradical activity : à review. *Journal of food composition and analysis*, 19: 531-53.

T

Tao Y., Wu D., Zhang Q., Sun D. 2014. Ultrasound –assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, *Ultrason. Sonochem*, 21, 706-715.

Terki L., Kujawski W., Kujawa J., Kurzawa M., Filipiak-Szok A., Chrzanowska E., Khaled S, Madani K. 2018. Implementation of osmotic membrane distillation with various hydrophobic porous membranes for concentration of sugars solutions and preservation of the quality of cactus pear juice. *Journal of Food Engineering*, 230(8): 28-38.

Tesoriere L., Butera D, Pintaudi AM., Allegra M., Livrea MA. 2004. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *Am J Clin Nutr*, 80: 391-5.

U

Urquiaga I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E. 2000. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res*, 33: 55-64.

V

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

Valls J. Millán S. Martí M.P. Borràs E. and Arola L. 2009. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 1216: 7143–7172.

W

Waksmundzka-Hajnos M., ET Sherma J. 2011. High Performance Liquid :Chromatography in Phytochemical Analysis. Chromatographic Science Series. pp. 477- 478.

Wallace RS. and Gibson A.C. 2002. Cacti evolution and systematics.In: Cacti,biology and Uses.Pp.1-21 (Nobel,P.S.Ed).University of California Press,Berkeley,California,United states of America.

Wallace RS., Gibleson AC. 1997. Evolution and systematic Biology and Uses, P.S.Nobel Ed.,pp. 1-21.

Wang L. and Weller,C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals fromplants. Trends in Food Science and Technology, 17: 300-312

Welegerima G., Zemene A., Tilahun Y. 2018. Phytochemical composition and antibacterial activity of Opuntia ficus indica cladodes extracts. Journal of Medicinal Plants 6, 243-246.

Wu TY., GUO.,The CY., Hay JXW. 2013. Theory and Fundamentals of Ultrasound, Advances in Ultrasound Technology for Environmental Remediation:Springer.p.5.

Y

Yasmeen R., Hashmi A.S., Anjum A.A., saeed, S., Muhammad K. 2012. Antibacterial activity of indigenous herbal extracts against urease producing bacteria J. Anim. Plant.Sci.22, 416-419.

Yoo K.M. Lee C.H. Moon B. and Lee. CY. 2008. Relative antioxydant and cytoprotective activities of common herb. Food Chemistry, 106: 9299-935.

Z

Zujko M. Witkowska A. and Kiemozek B. 2005. Antioxidant activities ofherbal infusions.

Brom. Chem. Toksykol, 37: 189-191.

Rapports

Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime. Etude du marché national et international des produits issus du cactus (fruit frais, raquettes pour aliments de bétail, huiles) et l'exploitation des opportunités pour l'exportation. Midfac, 2010.P.6-53.

Webographie

Nature et Santé. Le figuier de barbarie et son huile. Nature et Santé, phytothérapie, 2011. 40-42. Disponible sur : http://pharmacies.ma/mail_1/officinal89_figuier_de_barbarie.pdf

Anonyme 1 :

<https://www.algerie-eco.com/2017/09/03/50-000-hectares-consacres-a-culture-de-figue-de-barbarie-grande-filiere-agricole-a-developper/> (**consulté le 10/06/2019**)

Anonyme 2:

http://www.acgrenoble.fr/disciplines/spc/file/ressources/Resolution_probleme/2014_2de_S_ante_extraction_de_principes_actifs.doc (**consulté le 08/04/2019**).

Annexes

Annexes

Annexe I : Appareillage et logiciel utilisés :

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

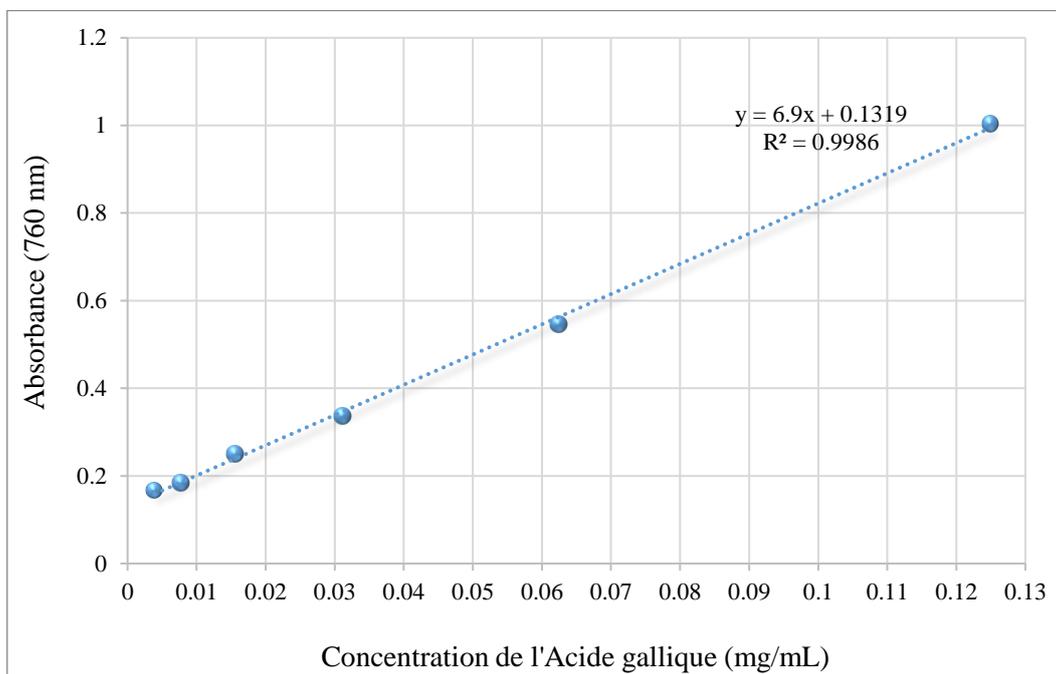
Annexe II : Produits chimiques et réactifs

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

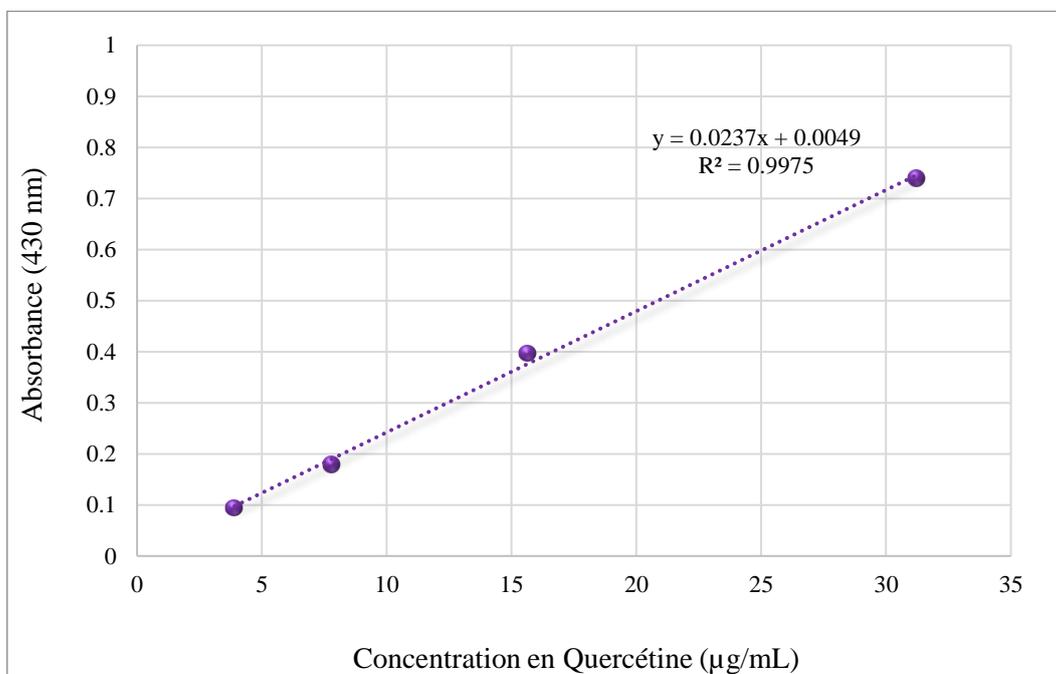
Annexes

Annexe III : Courbes d'étalonnage

III-1 Courbe d'étalonnage pour le dosage des Composés phénoliques totaux :

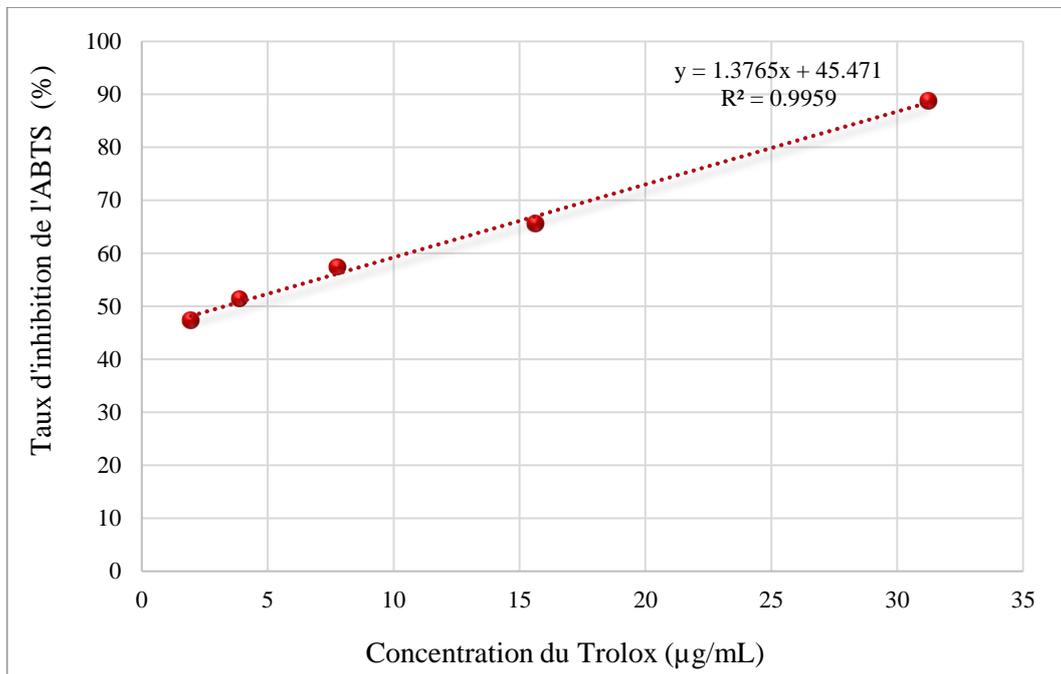


III-2 Courbe d'étalonnage pour le dosage des Flavonoïdes totaux :



Annexes

III-3 Courbe d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante par le test de l'ABTS :



Annexes

Annexe IV : Analyse Infrarouge

IV-1 Figure 1 : Spectres Infrarouges des poudres des cladodes séchées de trois espèces du genre *Opuntia* de différentes régions

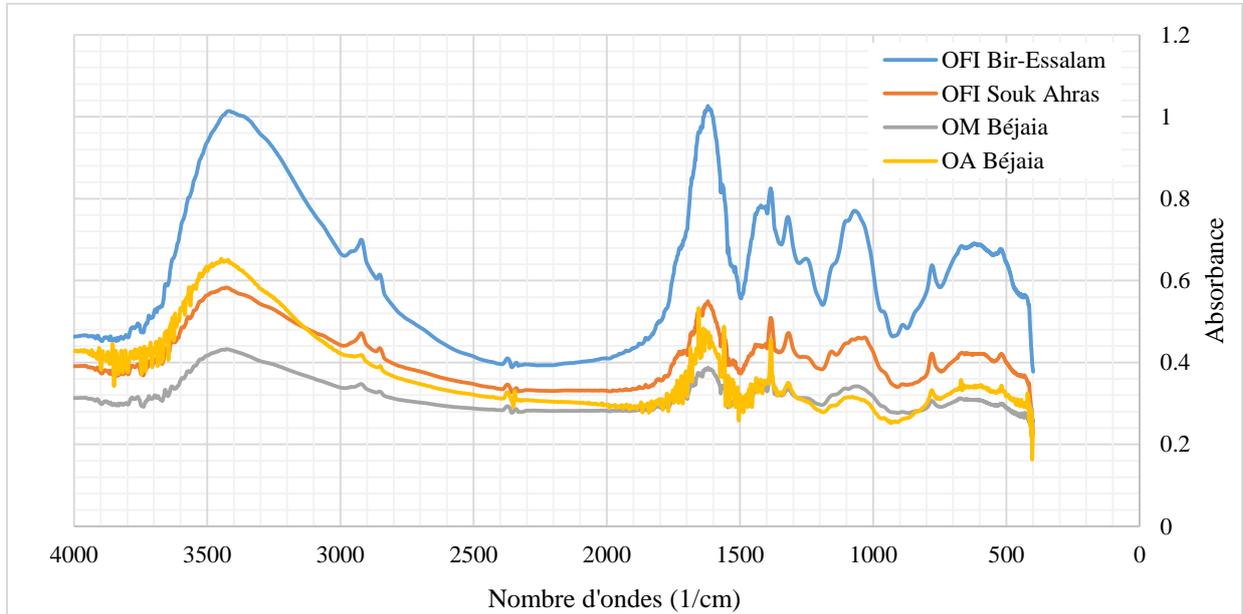


Figure 1.

IV-2 Figure 2 Spectres Infrarouges des extraits liquides bruts des cladodes séchées de trois espèces du genre *Opuntia* de différentes régions

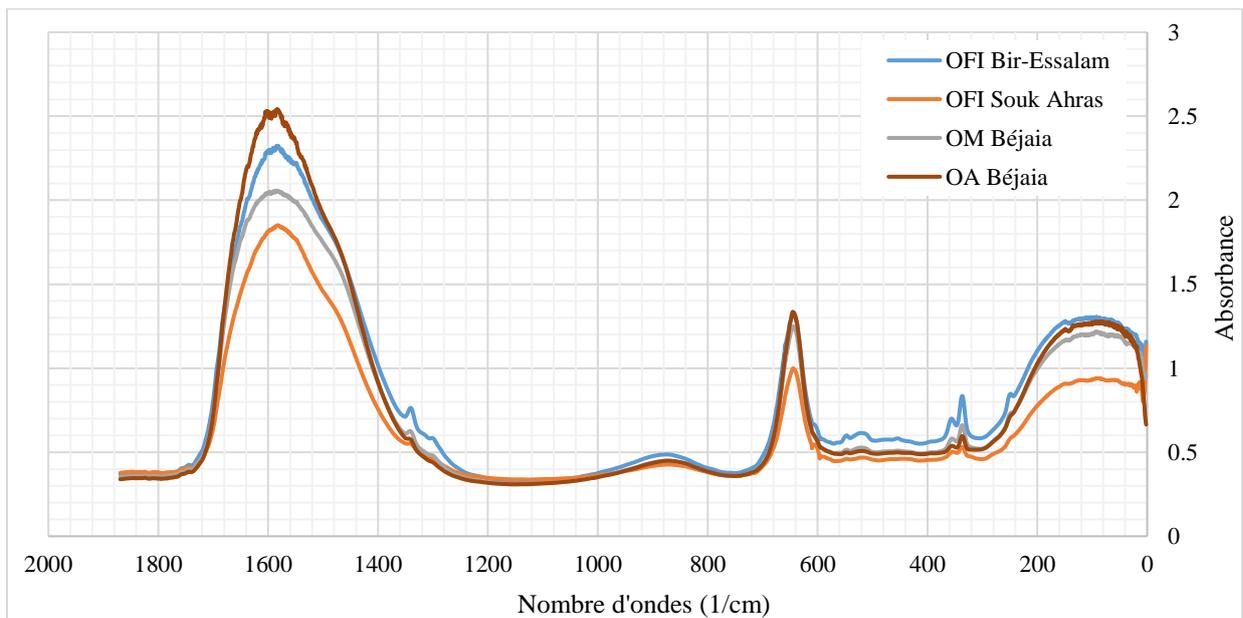


Figure 2.

Résumé

Dans le présent travail trois espèces : *Opuntia ficus indica* (OFI), *Opuntia megacantha* (OM) et *Opuntia amyclae* (OA), ont été étudiées et récoltées de deux régions (Béjaia et Souk Ahras). Nous avons ainsi mis l'accent sur le dosage des composés phénoliques totaux (CPT) (flavonoïdes; FT), ainsi que sur l'évaluation de l'activité anti-oxydante. Afin d'optimiser l'extraction des CPT, deux méthodes d'extraction (conventionnelle et EAU) ont été utilisées et trois facteurs opérationnels (concentration en éthanol, temps et température) ont été étudiés. Les résultats de l'extraction nous révèlent que le rendement le plus élevé en CPT est obtenu par l'EAU, avec une amélioration de 14.6%. Les conditions optimales de l'extraction en EAU étaient : éthanol à 50%, avec une durée de 30 min et une température de 60°C. L'étude comparative des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes a révélé qu'OFI Bir-Essalam est plus riche en CPT (35.83 ± 3.12 mg EAG/g MS) et l'OFI Souk Ahras est plus riche en FT (2.88 ± 0.03 mg EQ/g MS) par rapport aux autres espèces. Les résultats de l'activité anti-oxydante indiquent que les espèces OFI et OM présentent des taux d'inhibition d'ABTS les plus élevés sans différence significative entre les régions de collecte. L'analyse IRTF des poudres et des extraits liquides montre la nature polyphénolique et polysaccharidique des échantillons, ainsi que la richesse des cladodes en divers biomolécules.

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

Abstract

In the present work three species: *Opuntia ficus indica* (OFI), *Opuntia megacantha* (OM) and *Opuntia amyclae* (OA), were studied and harvested from two regions (Béjaia and Souk Ahras). We focused on the determination of total phenolic compounds (TPC) (flavonoids; TF), as well as the evaluation of the antioxidant activity. In order to optimize the extraction of TPC, two extraction methods (conventional and UAE) were used and three operational factors (ethanol concentration, time and temperature) were studied. The results of the extraction reveal that the highest yield of TPC is obtained by UAE, with an improvement of 14.6%. The optimum conditions for UAE were: 50% ethanol, during 30 mn and at 60 °C. The comparative study of the polyphenol and flavonoid contents revealed that OFI Bir-Essalam is richer in TPC (35.83 ± 3.12 mg GAE/g MS), and OFI Souk Ahras is richer in TF (2.88 ± 0.03 mg QE/g MS) compared to other species. The results of the antioxidant activity indicate that OFI and OM species have the highest ABTS inhibition rates whenever the collection regions. FTIR analysis of powders and liquid extracts shows the polyphenolic and polysaccharide nature of the samples, as well as the richness of the cladodes in various biomolecules.

Key-words: *Opuntia*, total phenolic compounds, flavonoids, conventional extraction, ultrasound assisted extraction.