

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID- TLEMCEEN
Faculté des sciences
Département de Chimie



Thèse de doctorat en Chimie

Option : Chimie bio-organique et thérapeutique

Présentée par :

M^{elle} BENATTIA FARAH KENZA

Analyse et Application des Extraits de Pépins de Figues de Barbarie

Soutenue publiquement le : 21/11/2017 à Tlemcen devant le jury composé de :

Président	Boufeldja TABTI	Pr.	Université Aboubekr Belkaid Tlemcen
Examineurs :	Youssef KHABBAL	Pr.	Université Ibn Zohr Agadir, Maroc
	Houcine BENMEHDI	MCA	Université Tahri Mohamed Bechar
	Mohamed Amine DIB	Pr.	Université Aboubekr Belkaid Tlemcen
Directeur de thèse	Zoheir ARRAR	Pr.	Université Aboubekr Belkaid Tlemcen
Invité	Hadj Fayçal DERGAL	MRB	C.R.A.P.C Alger

Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses (COSNA)



Remerciement

Je tiens avant tout à remercier « **Mon Dieu** » « **الله** » le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience afin d'accomplir ce modeste travail qui a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyse (COSNA) de l'Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen, je tiens tout d'abord à exprimer mon profond respect et mes remerciements les plus sincères au professeur **Zoheir Arrar**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. La qualité de ses conseils, le soutien et la confiance qu'il m'a accordée, m'ont permis de réaliser le présent travail dans les meilleures conditions.

Nous souhaitons remercier sincèrement, le Professeur **Youssef Khabbal** de nous avoir permis d'effectuer les tests *in vivo* au sein de son laboratoire, afin d'étudier les interactions entre les substances bioactives et l'organisme, et d'avoir partagé avec nous son expérience dans le domaine de pharmacologie, un grand merci pour son bienveillance, l'encouragement, son soutien technique, et le savoir avec lesquels il m'a entouré.

Un remerciement spécial à Mr **Fayçal Dergal** maître de recherche (B) au centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques CRAPC pour sa très grande gentillesse, sa bonne humeur et sympathie, son soutien technique, aide, et encouragement, ses conseils, et sa disponibilité surtout dans les moments difficiles.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail, et de l'enrichir par leurs propositions :

- Mr **Boufeldja TABTI** professeur à l'Université de Tlemcen, qui a bien voulu me faire l'honneur de juger ce travail et de présider le jury de ma thèse de doctorat. Je lui adresse mes remerciements les plus respectueux.
- Mr **Youssef KHABBAL** professeur à l'université d'Agadir (Maroc),
- Mr **Mohamed Amine DIB** Professeur à l'université de Tlemcen,
- Mr **Houcine BENMEHDI** maître de conférences (A) à l'université de Bechar et
- Mr **Hadj Fayçal DERGAL** maître de recherche (B) au CRAPC d'Alger pour avoir mobilisé de leurs temps pour examiner et juger ce travail.

Merci à toute ma famille particulièrement mes parents, ma joie et raison de vivre.
Je suis redevable d'une éducation dont je suis fier.

Enfin, Je voudrais exprimer ma sincère gratitude et ma profonde reconnaissance envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de cette thèse en particulier Mme **Sebiane Naima**.

A tout le monde **Merci** du fond du coeur.

Farah

*D*édicace

Je dédie ce travail :

A mes parents, qu'ils

Trouvent ici toute ma gratitude

Pour leur soutien tout au long de mes études

A mes sœurs et mes frères

A mes deux Professeurs

Zoheir Arrar, Youssef Khabbal

Je tiens à témoigner mon

Respect et ma reconnaissance

A tous mes amies et collègues.

Farah Kenza

A : Ampère
Abs : Absorbance
Ac Asc : Acide Ascorbique
ADN : Acide désoxyribonucléique
AFNOR : Association Française de Normalisation
AG : Acides gras
AGE : acides gras essentiels
ALAT : Alanine amino transférase,
AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium
AMP : Ampicilline
APR : Le pouvoir antiradicalaire
Ara : Arabinose
ASAT : Aspartate amino transférase
ATCC : American type culture collection.
AU : Acide uronique
B : Bacitracine
B.c : Bacillus cereus
BF₃ : Tri fluorure de bore
BHA : Butylhydroxyanisole
BHT : Butyl- hydroxytoluène
°C : Degré Celsius
C : Concentration
C.A : Candida albicans
CAM : Métabolisme Acide Crassulacéen
CAT : Catalase
CCM : Chromatographie sur couche mince
Cm : Centimètre
COSNA : Chimie Organique Substance Naturelles et Analyses
COX : Cyclo-oxygénases
CPG : Chromatographie en phase gazeuse
CRAPC : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques
CTX : Céfotaxime
d₂₀ : densité relative
DCM : dichlorométhane
DMSO : Diméthyl sulfoxyde
DO : Densité Optique
DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
EAcét : Extrait Acétone
EAG : Equivalent Acide Gallique
EAg : ExtraitAqueux
E.c : Escherichia coli
EC₅₀ : Concentration effective à 50%
EDcm : Extrait Dichlorométhane
EEp : Extrait Ether de Pétrole
EEtoh : Extrait Ethanol
EEtoh 50% : Extrait Ethanol 50%
EMAG : esters méthyliques
EMeoh : Extrait Méthanol
EMeoh fc : Extrait Méthanol fractionné
EP : éther de pétrole
Fe²⁺ : Fer ferreux
Fe³⁺ : Fer ferrique

FeCl₃ : Chlorure de Fer
FID : Flame Ionisation Detector
FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power
g : gramme
G₀ : Glycémie de base
Gal : Galactose
GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Gas chromatography-mass spectrometry)
Glu : Glucose
Gly : Glycémie
h : heure
ha : hectar
HDL : Lipoprotéine de haute densité
HF : Huile de Figue de barbarie
HGPO : Hyper-glycémie Provoquée (Hyper Glycémie Per Os)
HIV : Virus Immunodéficience Humaine
HPLC : High performance liquid chromatography
H₂SO₄: Acide sulfurique
H₂O : Eau
H₂O₂ : Eau Oxygénée ou peroxyde d'hydrogène
I_A: Indice d'acide
IC₅₀ : concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres
I_E : Indice d'estérification
I_I: Indice d'iode
IL-4 : Interleukine 4
I_p : Indice de peroxyde
IP : injection intrapéritonéale
Ir : Indices de rétention
IRTF : Infrarouge à Transformée de Fourier
I_s : Indice de saponification
JOCE : Journal Officiel de la Communauté Européenne
KDa : Kilo dalton
K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de Potassium
Kg : Kilogramme
kg/m²/an : kilogramme par metre carré par an
K.p : Klebsilla pneumoniae
KPa : Kilo Pascal
L : Litre
LDH : Lactate déshydrogénase
M : Molarité
m : masse
m / z : masse sur la charge
Man : Mannose
MeOH : méthanol
meq d'O₂/kg : milliéquivalent d'oxygène par kilogramme
mg : miligramme
M.H : Muller-Hinton
M.l : Micrococcus luteus
min : minute
mL : millilitre
mL/min : millilitre par minute
mM : milimole
mol/l : mole par litre

MS : Matière Sèche
N : Normalité
N₂ : l'azote
Nd: non détecté
nm : nanomètre.
OFI : Opuntia ficus-indica
OMS : Organisation mondiale de la santé
P : Pénicilline
P.a : Pseudomonas aeruginosa
PD : Patte Droite
PG : Patte Gauche
QE : Equivalent de la Quercétine
R : Résistante
Rha : Rhamnose
S : Sensible
S.a : Staphylococcus aureus
SAA : Spectrophotomètre d'Absorption Atomique
SD : Standard Deviation (Ecart-type)
SM : spectrométrie de masse
SOD : Superoxyde dismutase
STZ : Streptozotocine
T : Témoin
TBHQ : Tetra-butylhydroquinone
TE : Temps Endormissement
TMSH : Triméthyl hydroxy sulfonium
TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha
Tr : Temps de Rétention
TS : Temps de Sommeil
UI : Unité Internationale
Uma : Unité de masse atomique
 μm : micromètre
 μl : microlitre
UV : Ultra-Violet
Xyl : Xylose
v : volt
V : Volume
VA : Vancomycine
VIS : Visible
Vs : Versus
V/V : Volume à Volume
X : grossissement
% : Pourcentage

La liste des tableaux

- Tableau 1** : Les utilisations du figuier de Barbarie.
- Tableau 2** : Composition brute du fruit d'*Opuntia* (g /g de matière sèche).
- Tableau 3** : Composition des fibres du fruit d'*Opuntia* (% des fibres totales).
- Tableau 4** : Composition des hydrates de carbone du fruit d'*Opuntia* (% de matière sèche).
- Tableau 5** : Composition minérale du fruit du figuier d'*Opuntia* (mg/100 g de MS)
- Tableau 6** : Composition chimique des raquettes de cactus.
- Tableau 7** : Composition moyenne (% en poids par rapport à la masse sèche) de la fleur de la figue de barbarie.
- Tableau 8** : Composition de la fleur en sucres neutres et acides.
- Tableau 9** : Composition chimique des graines des figues de barbarie.
- Tableau 10** : Composition en oses neutres et acides de la graine d'*Opuntia*.
- Tableau 11** : Composition en acides gras des huiles des graines d'*Opuntia*.
- Tableau 12** : Les stérols contenant dans l'huile des graines de figue de barbarie.
- Tableau 13** : La composition chimique des stérols, des vitamines liposolubles et de la β -carotène (g/kg) de l'huile de figue de Barbarie.
- Tableau 14** : Les principales classes des composés phénoliques
- Tableau 15** : Activités biologiques des composés phénoliques.
- Tableau 16** : Les quatre principaux types d'antioxydants végétaux.
- Tableau 17** : Quelques tests chimiques in vitro.
- Tableau 18** : Souches bactériennes.
- Tableau 19** : Liste des antibiotiques et l'antifongique testés sur les bactéries et la levure.
- Tableau 20** : La teneur des échantillons de graines d'*Opuntia ficus-indica* en huile.
- Tableau 21** : Résultats d'extraction de l'huile de graines de figue de barbarie par mode supercritique.
- Tableau 22** : Teneur en huile d'*Opuntia ficus-indica*.
- Tableau 23** : L'analyse chimique de la poudre sèche de pépins de figue de barbarie.
- Tableau 24** : Teneur en minéraux des graines de figue de barbarie.
- Tableau 25** : Les propriétés physico-chimiques.
- Tableau 26** : Densité relative de quelques huiles brutes selon (FAO/OMSS, 2008).
- Tableau 27** : Analyse qualitative et quantitative les esters méthyliques d'acides gras de l'huile d'*Opuntia ficus-indica*.
- Tableau 28** : Aspects, couleurs et rendements des différents extraits.
- Tableau 29** : Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés.
- Tableau 30** : Teneurs des fractions minoritaires des lipides.
- Tableau 31** : Teneurs des polyphénols, et des flavonoïdes totaux dans les extraits.
- Tableau 32** : Temps de rétention pour les standards utilisés.
- Tableau 33** : Temps de rétention et nombre de pics des extraits d'*Opuntia*.
- Tableau 34** : L'identification de différents constituants des extraits de graine d'*Opuntia*.
- Tableau 35** : Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*.
- Tableau 36** : Caractères d'identification des germes étudiés.
- Tableau 37** : Tableau récapitulatif des résultats obtenus.
- Tableau 38** : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour les souches

bactériennes de référence.

Tableau 39 : Effet des extraits d'*Opuntia ficus-indica* et du Piroxicam sur l'œdème induit par la carragénine et le pourcentage d'inhibition.

Tableau 40 : Etude de l'activité antalgique des extraits d'OFI par la méthode de TAIL FLICK.

Tableau 41 : Etude de l'activité antalgique des extraits d'OFI par le test de Koster.

Tableau 42 : Action sédative des extraits de graines d'*Opuntia ficus indica*.

Tableau 43 : Test de retournement.

Tableau 44 : Activité des deux extraits aqueux et hydro-éthanolique de graines d'OFI et du Glibenclamide sur les animaux ayant reçu une surcharge de glucose.

La liste des figures

Figure 1 : Aspect général d'*Opuntia ficus-indica*.

Figure 2 : Répartition mondiale d'*Opuntia ficus indica*

Figure 3 : Le figuier de Barbarie : a) la plante, b) les cladodes, c) les fleurs, d) les fruits, e) les graines, f) la poudre des graines.

Figure 4 : Principe d'une extraction par pression à froid.

Figure 5 : Principe d'une extraction par CO₂ supercritique.

Figure 6 : Classes d'acides gras.

Figure 7 : Schéma d'un appareil à chromatographie en phase gazeuse.

Figure 8 : Schéma d'un spectromètre de masse.

Figure 9 : Structure des différents tocophérols et tocotriénols.

Figure 10 : Structure du noyau cyclopentanperhydrophénanthrène.

Figure 11 : Structure de base des Stérols.

Figure 12 : Structure chimique d'Isoprène

Figure 13 : Structure des principaux caroténoïdes.

Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes la phényl 2-benzopyrone.

Figure 15 : Structure des principales classes des flavonoïdes.

Figure 16 : Quelques antioxydants de synthèse.

Figure 17 : Réduction du radical libre DPPH.

Figure 18 : Schématisation du principe de la mise en œuvre de l'antibiogramme.

Figure 19 : Observations microscopiques de la muqueuse gastrique des rats :

(A) rats traités par les cladodes lyophilisées d'*Opuntia ficus indica* (20 X),

(B) rats traités à l'éthanol (40X).

Figure 20 : Structure chimique du quercetin, dihydroquercetin et quercetin 3-méthyl éther.

Figure 21 : Taux de la glycémie (a), du glycogène (b), et du cholestérol (HDL et LDL) (c) chez des rats témoins et pré traités en l'huile d'*Opuntia ficus-indica* (25g /kg).

Figure 22 : Tolérance au glucose chez différents groupes des rats.

Figure 23 : (a). La cueillette des fruits d'*O.f.indica*, (b).Raquettes à l'état frais, (c).Les fruits, (d).1et 2. Les graines après séchage, 3. La poudre des graines broyées.

Figure 24 : L'huile d'*Opuntia*.

Figure 25. (a) : L'installation d'extraction Separex.

Figure 26. (b) : Le schéma de l'installation d'extraction supercritique.

Figure 27 : Schéma d'extraction à froid par l'eau distillé.

- Figure 28** : Schéma d'extraction par épuisement successive du matériel végétal.
- Figure 29** : Réaction de transformation en esters méthyliques (EMAG = FAME).
- Figure 30** : Colonnes capillaires utilisées en GC /FID.(1).TR-CN100,et en GC-MS. (2). Elite 5.
- Figure 31** : Schéma sur la réaction de test FRAP.
- Figure 32** : Graphique montrant le changement de la couleur du DPPH du violet au jaune.
- Figure 33** : Rats de la race *Sprague Dawley*.
- Figure 34** : L'administration orale des traitements.
- Figure 35** : Injection de la carragénine
- Figure 36** : Pléthysmomètre.
- Figure 37** : L'administration de l'extrait par voie intra péritonéale (IP)
- Figure 38** : Suspendre l'animal par les pattes antérieures sur le fil métallique.
- Figure 39** : Planche à trous.
- Figure 40** : L'emplacement de l'animal sur la planche.
- Figure 41** : Appareil de contention de l'animal.
- Figure 42** : Teneur en matière sèche des graines de fruit d'*Opuntia ficus-indica*.
- Figure 43** : Spectre de masse des acides gras saturés.
- Figure 44** : Spectre de masse d'Oléate méthyle.
- Figure 45** : Spectre de masse de linoléate méthyle.
- Figure 46** : Les chromatogrammes de la GC/MS (COSNA).
- Figure 47** : Les chromatogrammes de la GC/MS (CRAPC) : a. CO₂, b. Soxhlet.
- Figure 48** : Courbe d'étalonnage de l' α -tocophérol.
- Figure 49** : Courbe d'étalonnage du cholestérol.
- Figure 50** : Courbe d'étalonnage de la β -carotène.
- Figure 51** : Courbe d'étalonnage des polyphénols.
- Figure 52** : Teneur en polyphénols totaux de différents extraits d'OFI.
- Figure 53** : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.
- Figure 54** : Teneur des flavonoïdes de différents extraits d'*Opuntia*
- Figure 55** : Comparaison de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*.
- Figure 56** : Chromatogramme du mélange des standards.
- Figure 57** : Chromatogrammes d'HPLC des extraits de graine d'OFI à 280 nm.
- Figure 58** : Réduction du fer chez les différents extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*
- Figure 59** : Le % d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations de différents extraits d'*Opuntia ficus-indica*.
- Figure 60** : Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices 50 des différents extraits.
- Figure 61** : Photos représentant la coloration de Gram des souches bactériennes testées.
- Figure 62** : Activité antimicrobienne des extraits d'*Opuntia ficus-indica* .
- Figure 63** : effet des extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica* sur *Candida albicans* ATCC 26790.
- Figure 64** : Activité de la nystatine sur la levure *Candida albicans* ATCC 26790.
- Figure 65** : Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation des différents lots.
- Figure 66** : Photos du test de la traction.
- Figure 67** : Photos du test de la planche à trous.

LA LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Figure 68 : Effets les extraits d'*Opuntia* et le Glibenclamide sur la glycémie.

Figure 69 : Histogramme représentant le pourcentage de réduction de chaque lot par rapport au lot témoin.

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des tableaux et figures	
Introduction générale	1
Première partie : Etude Bibliographique	
Chapitre I- Généralités sur la figue de barbarie	
I.1.Introduction.....	5
I.2. Aspect historique.....	6
I.3. Origine et Répartition géographique.....	6
I.5. Nomenclature et appellation.....	7
I.6. Systématique de la plante.....	8
I.7. Caractères Botaniques.....	9
I.8. Utilisation de la figue de barbarie.....	10
I.9. Importances agro-économiques du figuier de Barbarie.....	13
Chapitre II- Etude Chimique	
II.1. Composition chimique de la figue barbarie.....	17
II.2. Extraction de l'huile de la figue de barbarie.....	22
II.2.1. Procédés d'extraction.....	22
II.3. Caractéristiques physico-chimiques.....	24
II.4. Les acides gras.....	26
II.4.1. Données générales.....	26
II.4.2. Analyse des acides gras.....	27
II.4.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (FAME).....	28
II.4.4. Analyse par Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	28
II.4.5. Analyse par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse GC/SM.....	29
II.5. Etude des tocophérols.....	30
II.6. Etude des stérols.....	31
II.7. Etude des caroténoïdes.....	36
II.8. Etude des polyphénols.....	37
Chapitre III : Applications biologiques et Potentialités thérapeutiques des extraits d'Opuntia	
Introduction sur l'Ethnopharmacologie du figuier de barbarie.....	43
III.1. Etude de l'activité antioxydante dans le monde végétal.....	43
III.1.1. Définition d'un antioxydant.....	44
III.1.2. Les principaux antioxydants.....	44
III.1.3. Les principales méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	46
III.1.3.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	46
III.1.3.2. Méthode de la réduction du fer (FRAP).....	48
III.1.3.3. Etude du pouvoir antioxydant du figuier de barbarie.....	48
III.2. Activité antibactérienne.....	49
III.3. Activité anti-inflammatoire.....	50
III.4. Activité antiulcéreuse.....	50
III.5. Activité antiallergique.....	51
III.6. Activité antigénotoxique.....	52
III.7. Activité diurétique.....	52
III.8. Activité hépato protectrice contre les pesticides.....	53
III.9. Action neuroprotectrice.....	53
III.10. Activité immunomodulatrice.....	54
III.11. Activité antalgique.....	55
III.12. Action diététique.....	56
III.13. Effet chondroprotecteur.....	58

SOMMAIRE

III.14. Méthodes d'étude des psychotropes.....	58
III.15. Activité catatonigène.....	58
III.16. Activité hypnotique.....	59
III.17. Activité antidiabétique.....	59

Deuxième partie : Etude Expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I.1. Matériel végétal.....	64
A. La récolte du matériel végétal.....	64
B. L'identification de plante.....	64
C. Méthode d'obtention les graines.....	64
I.1.1. Analyses physicochimiques.....	66
I.1.2.1. Détermination du pourcentage d'humidité.....	66
I.1.2.2. Détermination de la teneur en cendres totales.....	66
I.1.2.3. La teneur en minéraux.....	67
I.1.2. Détermination de la teneur en matière grasse.....	67
a- Extraction par soxhlet.....	67
b- Extraction par CO ₂ supercritique.....	68
I.1.3. Détermination les différents indices.....	68
a- Indice d'acide.....	68
b- Indice de saponification.....	70
c- Indice d'estérification.....	71
d- Indice d'iode.....	71
e- Indice de peroxyde.....	72
f- Indice de réfraction.....	73
g- Indice de densité.....	73
I.1.4. Préparation des extraits.....	74
I.1.4.1. Extraction par macération à l'eau.....	74
I.1.4.2. Extraction par les solvants organiques à polarité croissante.....	75
I.1.4.3. Extraction par macération.....	75
a- Le méthanol et l'acétone.....	76
b- L'éthanol.....	76
I.1.5. Analyse des acides gras.....	76
a- Analyse par CPG.....	76
b- Analyse par GC/SM.....	76
I.2. Dosage spectrophotométrique.....	79
I.2.1. Dosage des tocophérols totaux.....	79
I.2.2. Dosage des stérols totaux.....	79
I.2.3. Dosage des caroténoïdes totaux.....	79
I.2.4. Dosage des polyphénols totaux.....	79
I.2.5. Dosage des flavonoïdes totaux.....	80
I.2.6. Activités antioxydantes.....	81
a- Réduction du fer: FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	81
b- Evaluation de l'activité antioxydant par diphenyl-picryl-hydrazyl (DPPH).....	82
I.3. Analyse chromatographique par HPLC.....	83
I.4. Activité antibactérienne.....	84
I.4.1. Méthode de diffusion (Antibiogramme)	84
I.4.2. Confirmation des souches.....	84
a- Test de la catalase.....	85
b- Coloration de Gram.....	85
c- Observation des bactéries.....	85
I.4.3. Conservation des souches.....	85
I.4.4. Les milieux de culture.....	86
I.4.5. Stérilisation du matériel.....	86
I.4.6. Préparation des dilutions d'extraits d' <i>Opuntia</i>	86
I.4.7. Préparation de l'inoculum.....	86
I.4.8. Ensemencement et dépôt des disques.....	86
I.4.9. Lecture.....	87

SOMMAIRE

I.5. Antibiogramme (test de sensibilité aux antibiotiques)	87
I.6. Etude Pharmacologique.....	88
I.6.1. Les animaux.....	88
- Les rats.....	88
- Les souris.....	88
I.6.2. Activité anti-inflammatoire.....	88
I.6.3. Activité antalgique.....	91
I.6.3.1. Méthode d'étude des analgésiques vrais.....	91
- Test du TAIL FLICK.....	92
I.6.3.2. Méthode d'étude des analgésiques antipyrétiques.....	92
- Test de Koster à l'acide acétique chez la souris.....	92
I.6.4. Méthodes d'étude des psychotropes.....	93
a- Test de la traction.....	94
b- Test de la cheminée.....	95
c- Test de la planche à trous.....	95
I.6.5. Recherche de l'activité hypnotique.....	97
I.6.6. Recherche de l'activité catatonigène.....	97
I.6.7. L'Activité hypo et antihyper-glycémiant des extraits d' <i>Opuntia</i>	98
 Chapitre II : Résultats et Discussion	
II.1. Détermination de la teneur en matière sèche des graines d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	101
II.2. Analyse quantitative des lipides.....	101
II.3. Analyses physicochimiques.....	103
- Teneurs en minéraux.....	104
II.4. Composition en acides gras de l'huile d' <i>Opuntia ficus-indica</i>	105
II.5. Analyse Quantitative des fractions minoritaires des lipides.....	112
a. Taux des tocophérols totaux.....	112
b. Taux des stérols totaux.....	113
c. Taux des caroténoïdes totaux.....	114
II.6. Estimation quantitative des composés phénoliques.....	114
II.7. Résultats d'Analyse chromatographique par HPLC.....	119
II.8. Activités biologiques <i>in vitro</i>	123
II.8.1 Activités antioxydantes.....	123
a. Réduction du fer: FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	123
b. Evaluation de l'activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)	125
II.8.2. Résultats des tests des effets biologiques.....	127
a. La coloration de Gram.....	127
b. Résultats du pouvoir antimicrobien.....	128
c. Effet sur <i>Candida albicans</i>	131
d. Sensibilité aux antibiotiques.....	134
II.9. Résultats de l'étude pharmacologique.....	135
a. L'Activité anti-inflammatoire.....	135
b. Activité antalgique.....	137
- Test du « TAIL FLICK »	137
- Test de Koster à l'acide acétique chez la souris.....	139
c. Méthodes d'étude des psychotropes.....	140
- Test de la traction.....	140
- Test de la cheminée.....	141
- Test de la planche à trous.....	142
d. L'activité hypnotique.....	144
e. L'activité catatonigène.....	144
f. Activité Hypo et Antihyper-glycémiant.....	145
Conclusion et perspectives.....	151
Références bibliographiques	
Résumés	



Etude

Bibliographique

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale :

A travers le temps, l'homme a pu compter sur la nature afin d'assurer ses besoins de base: nourritures, abris, vêtements et également pour se soigner. Les plantes peuvent être considérées comme des bibliothèques de petites molécules de métabolites secondaires des composés organiques avec une diversité structurale qui, autrement, ne pourrait pas être disponibles dans un laboratoire de synthèse chimique .[1]

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, l'alimentation, la cosmétologie, et en dermatopharmacie.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. [2]

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un intérêt croissant ces dernières décennies pour l'étude des plantes médicinales, et leurs utilisations dans les différentes régions du monde. Aujourd'hui, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaires, non plus par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne, mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité.

A côté de ces plantes médicinales, les fruits et légumes forment une autre ressource phyto-génétique qui ne cesse de susciter l'intérêt de la communauté scientifique. Ces dernières années, la consommation des aliments d'origine végétale constitue un enjeu de santé publique. Ce phénomène social est certainement lié à la prise de conscience quant à la relation de cause à effet entre la qualité des aliments et la santé.

En effet, beaucoup d'études ont démontré qu'une alimentation riche en aliments d'origine végétale réduit considérablement plusieurs maladies comme les accidents cardiovasculaires, et certains types de cancer. Les propriétés préventives des aliments d'origine végétale sont dues à la présence de vitamines C, E et A, et des composés phénoliques qui sont des molécules dotées d'un pouvoir antioxydant. [3]

Le continent africain est un des continents dotés de la plus riche biodiversité dans le monde. L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces qui

présentent divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles. [4]

Certaines espèces de cactus ont fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques depuis plusieurs décennies. C'est le cas notamment du figuier de Barbarie objet de notre étude, un cactus appartenant au genre *Opuntia*. Cet arbuste est loin d'être un simple cactus. Il est une source d'une immense richesse de sa raquette jusqu'au fruit et ses graines, pas seulement financière, mais aussi pour la santé animale et surtout l'environnement. Le figuier de Barbarie est aussi un remède naturel qui s'avère efficace pour lutter contre le cholestérol, le diabète du type II, l'adénome prostatique, brûlures, les ulcères gastroduodénaux, et même certains types de cancer dont il ralentirait leur progression. Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes, antimicrobiennes, et de valoriser leurs effets thérapeutiques comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols.

A l'heure actuelle, le figuier de barbarie longtemps délaissé, présente le sujet de plusieurs recherches scientifiques dans le monde entier. A part son huile qui est jusqu'à présent l'huile la plus cher au monde, à cause de sa richesse en oligo-éléments, acides aminés, ainsi la régénération des cellules, et la lutte contre le vieillissement, ce nopal semble posséder plusieurs propriétés pharmacologiques qui sont toujours en court d'exploitation et d'étude.

Dans cette étude on s'intéresse au genre *Opuntia* de la famille des Cactacées, et on s'intéresse plus précisément à l'espèce *ficus-indica*. Ce genre qu'il est très répandu dans le bassin méditerranéen, en particulier en Algérie. Dans cette optique, l'objectif scientifique de notre travail est de mettre en évidence les composés bioactifs de ce cactus algérien afin de déterminer leurs compositions chimiques, discerner ces vertus thérapeutiques, et valoriser cette plante qui constitue une mine d'or en attente d'investisseurs pour notre pays, et qui pourrait devenir une source de revenu importante dans différents secteurs

Le contenu de cette thèse est présenté en deux parties dont la première partie comprend trois chapitres consacrée à l'étude bibliographique décrivant avec détails :

- Les caractères botaniques de la plante, la systématique, les différentes utilisations, ainsi les importances agro-économiques dans le premier chapitre.
- Le second chapitre sert à décrire le matériel et l'ensemble des techniques et méthodes utilisées pour l'étude chimique qui comprend l'extraction, le dosage colorimétrique, les activités antioxydantes.
- Le troisième chapitre est une étude pharmacologique qui décrit les différents tests et activités biologiques à potentialités thérapeutiques.

La deuxième partie sera consacrée à la présentation, et la description de la partie expérimentale. Elle est divisée en deux chapitres dont :

- Le premier chapitre traite en détails les différents modes opératoires, protocoles, méthodes et techniques utilisées afin d'étudier, et tester *in vivo* et *in vitro* le matériel végétal.
- Le deuxième chapitre est réservé à l'interprétation quantitative et qualitative aux résultats obtenus dans notre étude qui permettent de mettre en évidence les structures chimiques, les composés bioactifs, et les extraits naturels actifs.

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

Chapitre I :
***GENERALITES SUR LA FIGUE DE
BARBARIE***

Chapitre I - Généralités sur la figue de barbarie

I.1.Introduction

Le Nopal est le nom mexicain, d'origine aztèque du Figuier de Barbarie. C'est une plante grasse, originale et très utile, caractérisée par des tiges en forme de raquettes épaisses, elliptiques, surmontées au printemps de belles fleurs de couleur jaune vif, auxquelles succèdent des fruits ovoïdes vert jaunâtre, parfois teintés de rouge. Ils contiennent une pulpe sucrée, rougeâtre, verdâtre ou jaunâtre parsemée de nombreuses petites graines. Son fruit est cueilli de fin juillet à septembre, se consomme pelé, et sa pulpe, de couleur corail ou rouge, apparaît pleine de petits pépins sombres (figure 1).

Sa sobriété et son incroyable vitalité permettent à ce Cactus, de prospérer jusque dans des contrées désertiques souvent inhospitalières, où il offre à l'homme et aux animaux domestiques ses vertus nourricières et thérapeutiques. On en compte plus de 400 espèces et d'innombrables variétés.

Chez les Indiens d'Amérique, le Nopal appartient depuis toujours aux plantes médicinales les plus utilisées. Pour les populations précolombiennes, la recherche médicale moderne redécouvre avec un intérêt grandissant la plante et ses propriétés. Elle étudie les molécules actives qui la composent et lui permettent de lutter efficacement contre quelques-unes des affections les plus graves de notre temps : l'angoisse, l'artériosclérose, le cholestérol, le diabète, l'obésité, la spasmophilie, le stress.

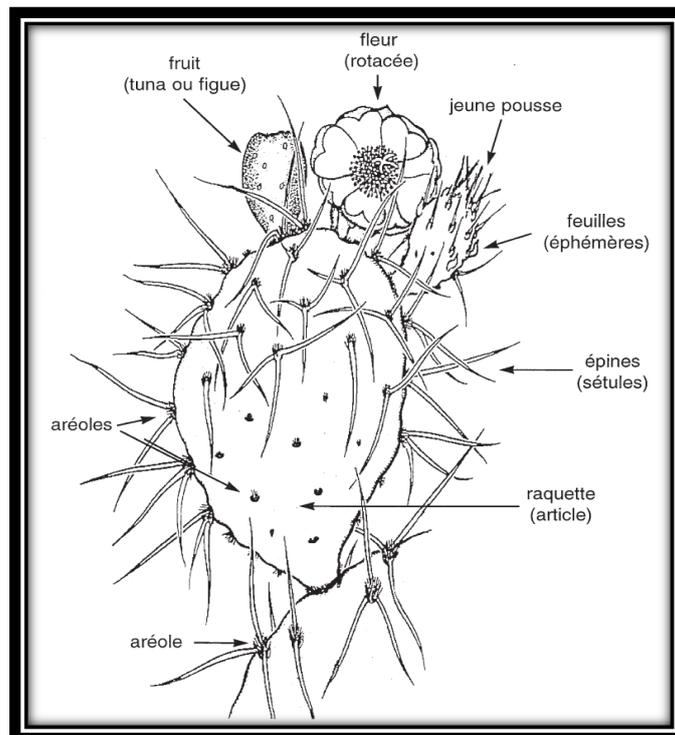


Figure 1 : Aspect général d'*Opuntia ficus-indica*. [5]

I.1. Aspect historique :

Le Nopal originaire d'Amérique centrale, s'est répandu à travers tout le continent, il fut ramené en Europe après la première expédition de Christophe Colomb par les Espagnols.

A l'aube du seizième siècle, la plante s'est répandue dans le bassin méditerranéen suite aux expansions espagnoles et aussi par le retour des arabes à leur pays dans le nord-africain suite à leur expulsion par Philippe III en 1610. Les expulsés appelés « morisqués » ont ramené avec eux des raquettes qu'ils ont plantées autour de leurs villages. La plantation du figuier de barbarie a été considérablement étendue dans la région du sud de l'Afrique (1772), l'Inde (1780), les Philippines (1695), la Chine (1700) et l'Indochine (1790). [6]

C'est grâce à l'homme que le Nopal doit d'avoir franchi les océans. Dans notre partie du monde, on trouve donc maintenant la plante à l'état subspontané de l'Afrique du Nord jusque dans la France méridionale et les vallées suisses du Tessin et du Valais. Le cactus mexicain s'acclimate rapidement à l'ensemble des rivages méditerranéens. Ne craignant aucunement l'aridité, il s'adapte facilement à des sols très secs et pauvres.

I.2. Origine et Répartition géographique :

Le genre *Opuntia*, originaire du Mexique, figure d'ailleurs sur l'emblème du drapeau mexicain. [7]

Sa distribution géographique est très large: Mexique, Sicile, Chili, Brésil, Turquie, Corée, Argentine et Afrique du Nord (figure 2). [8]

Il a été introduit d'abord en Espagne et plus tard au 16e siècle au Nord et au Sud de l'Afrique. Il s'est diffusé rapidement dans le bassin méditerranéen et s'y est naturalisé au point de devenir un élément caractéristique du paysage. [9]

Il est par essence développé sur la partie Ouest de la Méditerranée : Sud de l'Espagne, le Portugal, et l'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie et Maroc). [10, 11]

A titre d'exemple, la superficie cultivée dans la région du WANA (Ouest d'Asie et le Nord-africain) est d'environ 900.000 ha. [12]

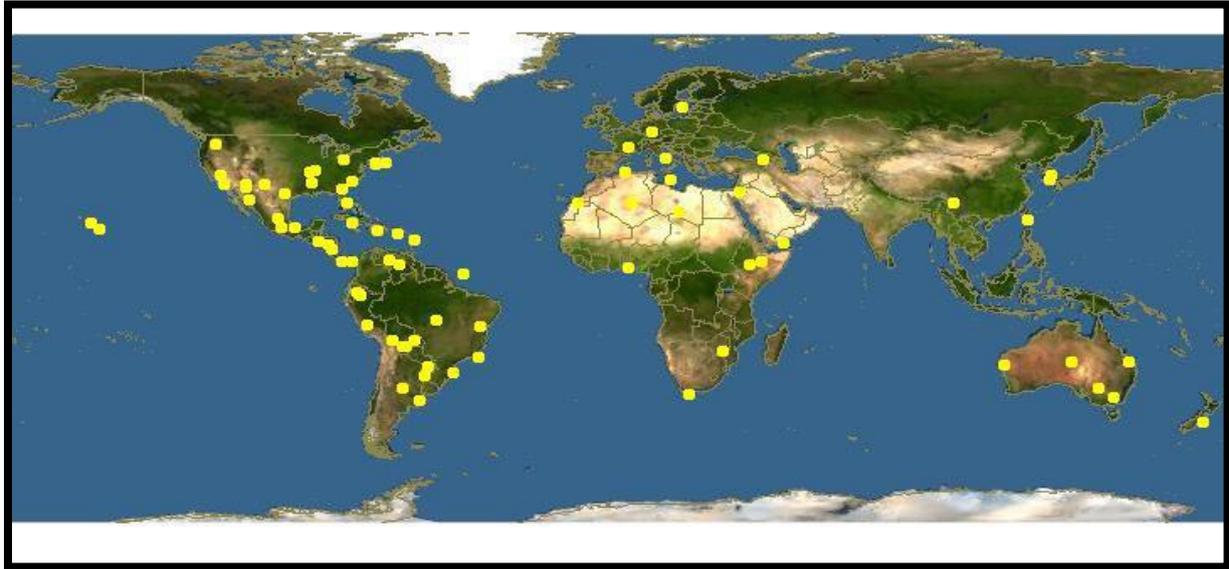
Dans certains pays tels que l'Italie, l'Espagne ou le Mexique; la culture du cactus est pratiquée de façon intensive et moderne avec des programmes de recherche-développement pour la production du fruit ou de fourrage et même pour des usages industriels. En revanche, en Australie et en Afrique du Sud, ce végétal, en particulier la variété asperme est considérée comme une mauvaise herbe à cause de la facilité avec laquelle, elle se propage. [13]

En Algérie, les plantations du figuier de barbarie sont réparties dans les hauts plateaux, à Batna, Biskra et Bordj-bou-Arrerijj, Constantine, sur les hauts plateaux Algérois à 550 mètres, et environs 750 mètres à M'sila, Laghouat et même à 1100 mètres Ain-Sefra. [14]

Du centre à l'ouest l'*Opuntia* occupent une superficie dépassent les 25.000 hectares par exemple, on le trouve sur les hauteurs de Chréa, Bouarfa (wilaya de Blida), dans les wilayas de, Boumerdès, Tipaza, Tissemsilt, Chlef, Relizane, Mostaganem, Ain-Témouchent , Oran,

Mascara, Sidi-bel Abbès, Tlemcen, dont la meilleure cueillette des figues de barbarie, est celle qui se réalise sur les hauteurs des montagnes, spécialement en milieu rocailleux.

A l'exception des montagnes et des zones sahariennes, la culture algérienne du cactus est largement représentée dans le paysage rural en plantation plus au moins régulières, autour des villages, en haies limitant les parcelles de culture ou de vergers. La culture de cactus se trouve parfaitement intégrée dans le système d'exploitation traditionnel. [15]



■ *Opuntia ficus-indica*

Figure 2 : Répartition mondiale d'*Opuntia ficus-indica*

I.3. Nomenclature et appellation :

Il existe plusieurs appellations selon les différentes régions dont le Nopal est le nom mexicain de la plante, vient du mot Nochtli en nahuatl, langue classique des Aztèques. En Espagne, outre Nopal, Nopallito, on l'appelle familièrement Nopalcito, Tuna, Ensada, Higos de Pala, Higos de Mauro ; en Andalousie : Chumbera ou Higuera Chumbra. Dans les pays francophones du bassin méditerranéen, où il est très populaire, l'*Opuntia* est une appellation savante, vient du latin Opuntius, d'Oponte, *L'Opuntia vulgaris* Miller et *l'Opuntia ficus-indica* Miller sont les deux espèces les plus répandues sur terre, mais la plante peut porter un nom différent selon l'idiome local. Aussi il est surnommé Cardasse, Chardon d'Afrique, Cactus raquette, Figuier à raquettes, Raquerre, Figuier de Barbarie (par corruption du mot Berbérie), Figuier d'Inde, Figuier du chameau, Oursin des sables, Châtaigne du désert, Semelle du Pape, et, plus trivialement : Main de velours ou Chatte à piquants ; en Italie, Fico de India ; en Angleterre : Barbary fig, Devils tongue (langue du diable), Prickly pear (poire à épines), Indian fig tree; en Allemagne : Feigenkaktus, Feigendistel, Indische Feige, Opuntie ; en Grèce : Chardon des Indes, Figuier des Francs ; en Hollande : Gewcone vyg, Indiannsche wyg ; au Portugal : Opuncia. En Égypte c'est l'El-tin-el-Choki. Au Maghreb, suite au reflux

des Maures chassés d'Espagne, les Arabes apprécièrent ce figuier d'un nouveau genre à la mode chez les Chrétiens, ils lui donnèrent le nom de Karmous en 'sarra (chardon des Nazaréens) ou Fiquier des Chrétiens. [5]

En Tunisie, l'*Opuntia ficus-indica* est connu sous le nom de « hendi », en Algérie « hindia » au Maroc le figuier de barbarie possède plusieurs noms vernaculaires : « zaâboul », et « aknari ». [6]

I.4. Systématique de la plante :

La classification systématique ayant été initiée en Suède, par Carl Von Linné, les premiers scientifiques font néanmoins référence à des espèces européennes, comme le terme « cactus » qui vient du grec « kaktos », désignant le chardon. De même, ficus indica signifie clairement la figue des indes. Le terme Opuntia a probablement un rapport aux « Opuntes », ou « Opunces » peuple de la Grèce antique, de la région de Béotie. [16]

La famille des Cactacées renferme environ 1600 espèces avec le centre de la diversité maximale au Mexique qui abrite 669 espèces. [17]

La tribu des Opuntieae comprend le genre *Opuntia*, subdivisé à son tour en quatre sous-genres : Platyopuntia, Cylindropuntia, Tephrocactus et Brasiliopuntia. Le sous genre Platyopuntia comprend 150 à 300 espèces, parmi lesquelles figure *Opuntia ficus-indica*. Cette espèce est la cactée qui a la plus grande importance agronomique, tant pour les fruits comestibles que pour les raquettes qui peuvent être utilisées comme fourrage ou comme légumes. [18]

Position systématique :

La position systématique du figuier de barbarie est la suivante : [19]

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Phanérogames

Sous Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Caryophyllidae

Ordre : Opuntiales

Famille : Cactaceae

Sous-famille : Opuntioideae

Tribu : Opuntieae

Genre : *Opuntia*

Sous-genre : Platyopuntia

Espèce : *Opuntia ficus indica* (L.)

I.5. Caractères Botaniques :

Les cactacées (ou cactées) sont des végétaux phanérogames appartenant à la classe des dicotylédones, polypétales. Ce sont des arbustes et des arbres vivaces, à tiges charnues, caliciflores, apparemment aphytes. Leurs fleurs sont grandes, rotacées, hermaphrodites. [20]

Elles font partie de l'ordre des Opuntiales représenté par cette seule famille, l'une des plus jeunes du monde végétal. En effet, on ne connaît pas à ce jour de cactus à l'état fossile. La plante se caractérise par une remarquable adaptation à la sécheresse obtenue au fil du temps par la fantastique évolution de la structure de son organisme.

L'*Opuntia* se plaît dans les sols calcaires et les climats semi-arides avec des températures de 18 à 30 °C. Elles font partie des plantes xérophytes et succulentes, les xérophytes sont des plantes qui ont réussi à développer une aptitude à se contenter de peu d'eau et qui peuvent donc survivre à de très longues périodes de sécheresse, telles que celles que l'on rencontre dans les régions arides et semi-désertiques. Ces adaptations se présentent sous diverses formes morphologiques et physiologiques.

L'une d'entre elles réside dans la faculté d'emmagasiner de l'eau dans des tissus végétatifs qui prennent un aspect spongieux. Ce phénomène est appelé "succulence" (succus = sève). Les cactacées se distinguent des autres plantes succulentes par l'absence de latex lors d'une blessure. [21]

Le figuier de Barbarie est une plante arborescente robuste de 2 à 6 m de haut possède un tronc épais et ligneux (figure 3a), et une organisation en articles aplatis, 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 appelés cladodes ou raquettes (figure 3b).

Les cladodes assurent la fonction chlorophyllienne et sont recouvertes d'une cuticule cireuse (la cutine) qui limite la transpiration et les protège contre les prédateurs, les feuilles sont de forme conique et ont quelques millimètres de long, éphémères, apparaissant sur les cladodes jeunes. A leur base, se trouvent les aréoles (environ 150 par cladodes), qui sont des bourgeons axillaires modifiés, typiques des cactacées. Leurs méristèmes produisent des épines, des glochides, des racines adventives, de nouvelles cladodes ou des fleurs. Les épines sont blanchâtres, clarifiées, solidement implantées et longues de 1 à 2 cm. Il y a deux variétés, la variété inerme et l'épineuse.

Les glochides sont de fines épines de quelques millimètres de couleur brunâtre, se décrochent facilement, munies de minuscules écailles en forme d'hameçons s'implantant solidement dans la peau. Ils sont présents même chez la variété inerme. Les fleurs marginales sur le sommet des cladodes âgées d'un an, et le plus souvent sur les aréoles situés au sommet des cladodes ou sur la face la plus exposée au soleil, sont hermaphrodites à ovaire infère uniloculaire, le pistil est surmonté d'un stigmate multiple. Les étamines sont visibles de couleur jaune-orange

(figure 3c). Ses fruits sont des baies charnues ovoïdes ou piriformes, uniloculaires et polyspermiques (figure 3d). [22]

Le poids de la baie varie de 67 g à 216 g, offrant un large spectre de couleurs, blanche, jaune et rouge.

La pulpe est toujours juteuse, de couleur jaune-orangé, rouge ou pourpre, parsemée de nombreuses petites graines dures, indigestes, mais riches en vitamines (figure 3e). On compte 300 graines pour un fruit de 160 grammes, On en obtient, après un broyage et préparation une poudre fine (figure 3f), et une huile très recherchée. Les composés rouges sont les bétacyanines et les jaunes sont les bétaxanthines. [23]

Sur le plan physiologique, le figuier de Barbarie est une plante à métabolisme de type CAM (Métabolisme Acide Crassulacéen), il présente plusieurs particularités : ses feuilles de nature éphémère tombent hâtivement. Les raquettes sont recouvertes d'un épiderme épais recouvert de cires, structurées de manière à limiter les pertes d'eau par transpiration. Les stomates sont enfoncés en profondeur et en cas de températures élevées et de fortes insulations, ils peuvent rester fermés une grande partie de la journée et peuvent perdre plus de 60 % de leur contenu en H₂O avant que les cellules ne meurent. [24]

Les sucres qui composent la cuticule ne sont pas décomposables par les microorganismes qui ne peuvent pas s'introduire dans le derme. [25]

Les épines et les poils exercent plusieurs fonctions. Ils défendent la plante, favorisent la condensation de l'eau à proximité de la surface des feuilles, contribuent à baisser la température journalière des tissus et réduisent l'interception de la lumière par les raquettes. [26]

Traditionnellement, le figuier de Barbarie est multiplié végétativement par bouturage des raquettes. Les jeunes plantes peuvent entrer en floraison à partir de la 2^{ème} ou la 3^{ème} année. La durée du cycle annuel dépend de la variété et de la zone géographique. [21]

I.6. Utilisation de la figue de barbarie :

Le figuier de Barbarie est l'exemple typique d'espèce parfaitement convenable pour la mise en valeur des zones arides et semi-arides. Sa culture est peu exigeante en investissements et le revenu qu'elle peut générer est important. En plus, sur le plan environnemental le Nopal, depuis les racines jusqu'à ses épines, appartient aux plantes les plus utilisées dans différents domaines notamment en médecine traditionnelle.

I.6.1. Usage alimentaire :

Les fruits sont appréciés et donnent lieu à plusieurs produits, dont quelques-uns sont connus et d'autres sont récemment développés ou en cours de recherche. La pulpe et le jus sont les utilisations les plus communes et domestiques du figuier de barbarie. Plusieurs études ont été

faites sur le jus et ont montré que ce produit a un goût et un parfum agréables. Une autre possibilité est la production des jus concentrés qui manifestent une bonne stabilité microbiologique. La pulpe peut être utilisée pour préparer des gels comme les gels de pomme et cognassiers. La confiture est un autre produit qui peut être préparé à partir du fruit. Elle présente une bonne qualité sensorielle et une stabilité microbiologique. Les fruits déshydratés sont une autre forme comestible du produit, ils peuvent être aussi conservés en boîtes ou congelés. [27].

En plus des fruits les jeunes pousses d'*Opuntia*, appelées "Nopalitos" sont consommées aussi comme légume au Mexique et dans le sud des Etats Unis. Elles sont riches en vitamine C et en Calcium et leur valeur nutritive est proche de celle de la laitue et des épinards. [21]

Le figuier de barbarie est utilisé aussi dans la préparation des boissons alcoolisées à partir de la pulpe tamisée. [28]

La couleur des figues de barbarie est due à des bétalaines et aux pigments azotés de couleur rouge ou jaune. Ces pigments peuvent être extraits et utilisés comme additifs dans les préparations alimentaires, dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques. Les pigments naturels rouges ou bétacyanines extraites à partir des plantes sont d'un intérêt croissant comme substituant des teintures rouges synthétiques dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique. [29,30]

De plus, les bétacyanines sont reconnues comme colorants alimentaires naturels et contrairement aux autres pigments rouges naturels, elles sont stables dans un large domaine de pH variant de 4 à 7. Cette propriété en fait des pigments idéaux pour la coloration des denrées alimentaires à acidité faible. [31]

I.6.2. Usage cosmétique :

Depuis des décennies, le figuier de barbarie est utilisé par les femmes berbères et indiennes du continent américain pour ses vertus cosmétiques. Les femmes berbères utilisaient l'huile pour cicatriser et pour protéger leur peau du vent brûlant du désert. Selon elles, l'huile de figues de barbarie constitue une arme redoutable pour lutter contre les agressions du temps et redonne à la peau du visage son tonus et sa fermeté. Aujourd'hui, les industriels s'intéressent de plus en plus à la production de l'huile des graines d'*Opuntia ficus-indica*.

La production se fait à partir de 800 à 1000 kg de fruits pour obtenir 25 à 30 kg de graines qui donneront après pressage 1 litre d'huile. L'huile de pépins de figues de Barbarie est d'une richesse exceptionnelle en vitamine E et en stérols qui lui confèrent une aptitude hors de commun à protéger la peau contre les radicaux libres. Cependant, pour soigner leurs mains malmenées par les rudes travaux auxquels elles sont soumises, les Indiennes préparaient du savon et des onguents à base de mucilage des raquettes et de jus des figues de barbarie. Elles préservaient de la même manière leur visage agressé par le soleil. Le suc de certaines variétés

servait et sert toujours à la préparation de fards et de rouges à lèvres. Les extraits de la plante sont présents dans la composition de nombreux produits cosmétique. Il remplace avantageusement la graisse de baleine dans la préparation des crèmes et des pommades. On trouve même, à coté de l'huile des graines du figuier de barbarie, des crèmes à base de cette huile. Le principal intérêt de ces dernières est leur effet antiride. [6]

I.6.3. Usage fourrager :

La production de fourrage constitue la deuxième grande utilisation du cactus indien. Plusieurs espèces et variétés ont été sélectionnées pour cette fin en Amérique Latine. Des études réalisées au Mexique ont montré que la productivité de l'*Opuntia* en matière sèche varie de 12 à 16 tonnes/ha en fonction des régions. En irrigué, cette productivité peut atteindre 30 tonnes/ha. Cela représente une productivité au mètre carré de 1,37 kg/an ce qui fait du figuier de Barbarie l'espèce la plus productive des zones arides (la moyenne pour d'autres espèces est de 0,71 kg/m²/an).

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. Ils sont recommandés comme complément de fourrage, surtout en été.

I.6.4. Usage médical :

En Australie et en Afrique du Sud, l'effet hypoglycémique des "Nopalitos" est utilisé dans le traitement des diabètes non dépendants de l'insuline. Le mucilage isolé des raquettes permet de réduire le cholestérol total dans le sang. Les femelles des cochenilles *Dactylopius coccus costa* ou *Dactylopius opuntiae cockerell*, qui prolifèrent sur des raquettes de l'*Opuntia ficus-indica*, sont utilisées pour la production d'un colorant de couleur rouge « le carmin » ou l'acide carminique. Ce colorant (E-120) est très utilisé par les industries alimentaires, cosmétiques et médicinales. [21]

En Afrique du Nord comme au Mexique, on utilisait les raquettes hachées sous forme de cataplasmes dans le pansement des foulures, des entorses et dans la réduction des fractures. Les médecins coloniaux préconisaient l'*Opuntia* dans le traitement des abcès, des cors, des durillons, des furoncles et de toutes les inflammations digestives et cutanées.

La recherche moderne a non seulement confirmé les vertus du Nopal, que la médecine traditionnelle seule reconnaissait jusqu'à nos jours, mais découvre chaque année de nouvelles propriétés. [5]

I.6.5. Usage agronomique :

Dans le figuier de Barbarie rien n'est à jeter. Que ce soient les résidus des raquettes ou des fruits, chaque partie de la plante constitue un excellent fertilisant. Par sa présence, l'*Opuntia*

aide à la régénération des sols épuisés par la culture. Il fixe les terrains ravinés par les pluies ou sujets aux éboulements, il stabilise les terres sablonneuses et les dunes des rivages maritimes.

Au Maghreb, aux temps de la Colonie, on utilisait les vieilles raquettes desséchées de l'*Opuntia* comme fumure des vergers. Pour cela on entassait dans un fossé creusé autour des oliviers, des amandiers, des figuiers vrais des "cladodes" d'*Opuntia* que l'on recouvrait de terre. Autre méthode : réduits en fragments et mis en terre, tous les *Opuntia* fournissent un excellent engrais. Il est évident que l'on choisissait de préférence pour cela les déchets restés après prélèvement manuel ou industriel des parties nourricières, les plants peu vigoureux ou les sujets à fruits médiocres. Autre avantage : la dispersion autour du pied de certaines plantes d'articles d'*Opuntia* broyés, éloigne les parasites et empêche la prolifération des mauvaises herbes.

Tableau 1: Les utilisations du figuier de Barbarie. [32]

Aires commerciales	Usages spécifiques
Production alimentaire	Fruits, Nopalitos, jus de fruits, extraction l'huile des graines
Production d'énergie	Alcool, biomasse fraîche.
Aliment de bétail	Fourrage, déchets de fruits.
Usage médical	Fleurs pour les diurétiques, cladodes pour diabète, mucilages.
Usage agronomique	Fixation du sol, source d'eau complémentaire, brise-vent
Colorants	Bétalanines dans les fruits, acide carminique

I.7. Importances agro-économiques du figuier de Barbarie :

L'adaptation du figuier de barbarie aux conditions désertiques et semi désertiques lui permet de constituer une culture à intérêts écologiques et socio-économiques indéniables. En effet, il constitue un bouclier contre la désertification et l'érosion des sols. Il est également cultivé pour la régénération des terres. Il ne demande pas de pratiques culturales spécialisées ni d'apport de fertilisants. [27]

Son impact considérable sur le revenu des agriculteurs a fait de cette plante l'une des espèces les plus rentables économiquement. [21]

Il est capable de produire de grandes quantités de biomasse végétale même dans les conditions extrêmes. Avec une pluviosité comprise entre 150 et 400 mm/an et en l'absence de

fertilisation, la variété inerme peut produire jusqu'à 100 tonnes de raquettes/ha/an, cette production est en fonction des régions. [33]

L'importance économique de ce végétal réside dans la production du fruit destiné à l'alimentation humaine et son usage fourrager pour l'alimentation animale, donc il génère des revenus et des emplois au profit des habitants, les raquettes du cactus sont appréciées par le bétail car elles sont riches en eau, en fibres, en protéines et en éléments minéraux. [34,35]

Leur consommation permet d'améliorer la saveur du lait et la couleur du beurre. [36]

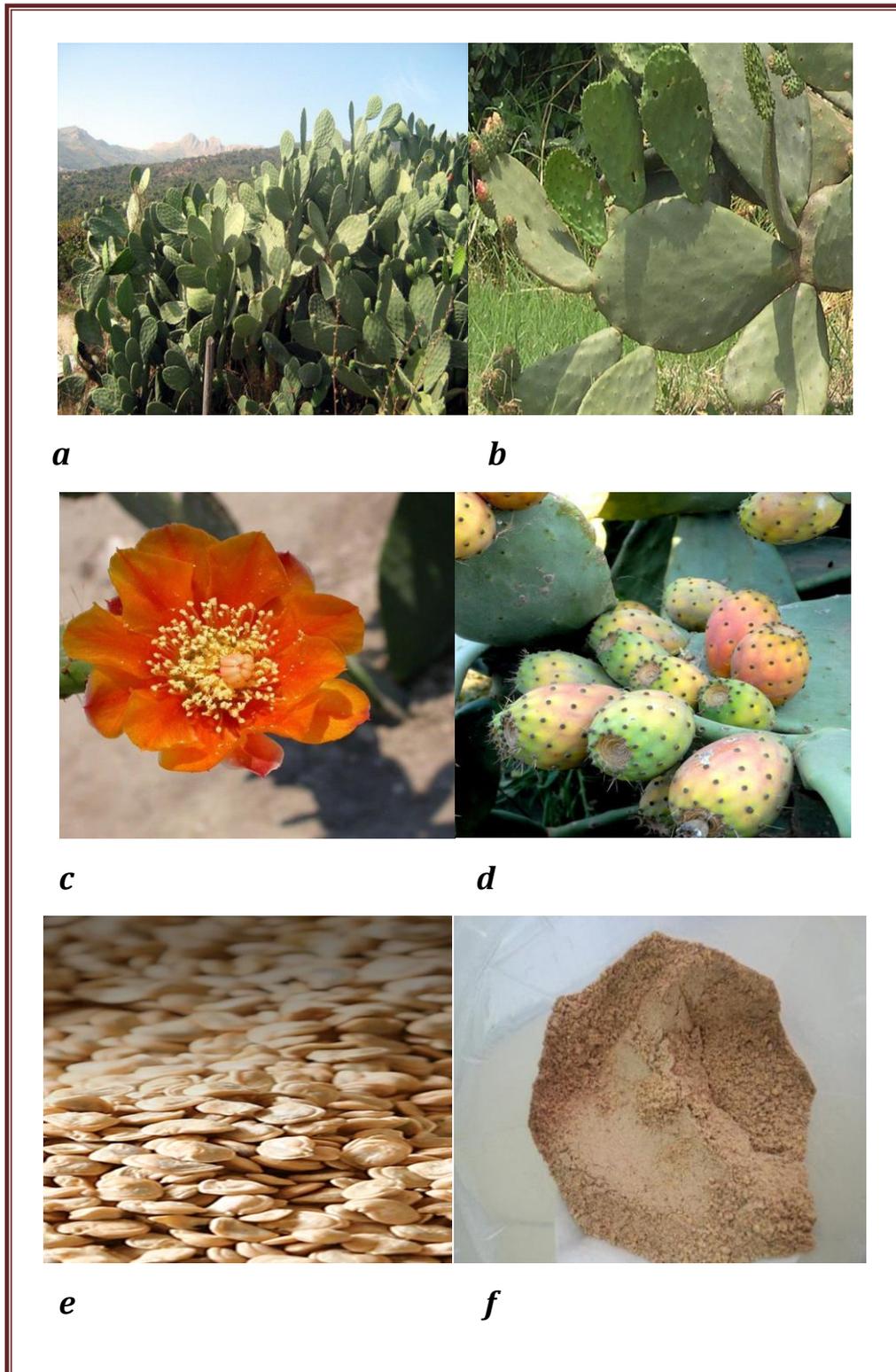


Figure 3 : Le figuier de Barbarie : a) la plante, b) les cladodes, c) les fleurs, d) les fruits, e) les graines, f) la poudre des graines (Cliché Benattia, 2013).

Chapitre II :
ETUDE CHIMIQUE

Chapitre II - Etude chimique

II.1.Composition chimique de la figue de barbarie :

Il est à signaler que les différentes parties d'*Opuntia ficus-indica* : Cladode, fruit, fleurs contiennent essentiellement une grande quantité d'eau et sont riches en minéraux tels que le calcium, magnésium, potassium, phosphore et cuivre. Elles sont également une excellente source de protéines, y compris les acides aminés essentiels, en particulier la proline et la sérine. [21,37] Les fibres du Nopal, comme la plupart des fibres végétales de qualité, régularisent le transit intestinal. Elles préviennent l'organisme de la constipation. Les vitamines A, B1, B2, B3 et C, présentes naturellement dans le Nopal, ses sels minéraux (sodium, potassium, fer...) et ses fibres (sous forme de lignine, de cellulose, d'hémicellulose, de pectine, de mucilages et de gommes, contribuent avec les acides aminés présents, à désintoxiquer l'organisme en général et plus particulièrement le foie. [5]

II.1.1.Composition chimique du fruit :

La composition du fruit, mentionnée dans le tableau (n° 2), montre que ce dernier est une source de protéines, fibres, minéraux et hydrates de carbone. La quantité des protéines varie de 5,3% à 11,3%. Elle est plus basse que celle enregistrée chez les légumineuses mais comparable à celle des céréales. Il s'agit en très grande majorité de fibres insolubles (cellulose, hémicellulose, lignine), formant en particulier la trame de graines présentes dans la pulpe, tandis que la peau contient essentiellement du glucose et elle est riche en cellulose. Le mucilage est composé d'arabinose, de galactose, de rhamnose, de xylose et d'acide galacturonique à des teneurs variables. [38]

Ce fruit contient aussi plusieurs catégories de vitamines comme : (A, C et B), et il ne contient pas l'acide phytique (phytinique) présent dans les céréales qui est reconnu nuisible dans l'alimentation humaine car il entrave l'absorption du calcium et de la vitamine D. Sa richesse en sucre en fait une excellente source potentielle d'alcool. En effet, 150 kg de figues fournissent 100 litres de suc qui produisent 7 litres d'alcool à 85°. [5]

Tableau 2 : Composition brute du fruit d'*Opuntia* (g /g de matière sèche). [39]

Constituants	Pulpe	Graine	Ecorce
Amidon	4,55	5,35	7,12
Protéines	5,13	11,8	8,3
Lipides	0,97	6,77	2,43
Cendres	8,5	5,9	12,1
Fibres	20,5	54,2	40,8
Hydrates de carbone	58,3	1,59	27,6

Tableau 3 : Composition des fibres du fruit d'*Opuntia* (% des fibres totales). [39]

Fibres %	Pulpe	Graine	Ecorce
Hémicellulose	15,5	9,95	20,8
Cellulose	14,2	83,2	71,4
Pectines	70,3	6,69	7,71
Lignines	0,01	0,19	0,06

Tableau 4 : Composition des hydrates de carbone du fruit d'*Opuntia* (% de matière sèche). [39]

Glucides %	Pulpe	Graine	Ecorce
Saccharose	0,22	0	2,36
Glucose	35	0	21
Fructose	29,6	0	2,89

Tableau 5 : Composition minérale du fruit d'*Opuntia* (mg/100 g de matière sèche). [6,39]

Minéraux	Pulpe	Graine	Ecorce
Ca	0,163	258	2090
Mg	76,1	208	322
Na	7,77	<0,83	<0,85
K	559	275	3430
P	0,03	110	0,064
Fe	16,5	12,1	8,31
Cu	<0,78	<0,83	<0,85
Zn	1,55	4,16	1,7
Mn	6,99	<0,83	72,9
Mo	<0,31	<0,33	<0,34

II.1.2. Composition chimique des raquettes:

Les raquettes du figuier de barbarie sont caractérisées par un déséquilibre nutritionnel bien qu'il soit une source d'énergie et d'eau. Les teneurs en eau des raquettes fraîches varient de 80 à 90%. Les raquettes sont réputées être riches en minéraux essentiellement le calcium et les oxalates et en mucilage, polysaccharides de structure chimique parfois très complexe retrouvés dans plusieurs plantes supérieures.

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. [39]

Des chercheurs ont signalé dans la composition du Nopal la présence d'un tannin, des traces de berbérine et d'un autre alcaloïde indéterminé. La substance mucilagineuse qui fait la richesse de l'*Opuntia* c'est la pectine (1 kg de tiges fraîches fournit 7,5 grammes de pectate calcomagnésien). Ses cendres sont riches en fer. [5]

Tableau 6 : Composition chimique des raquettes d'*Opuntia*. [40]

Caractéristique	Valeur en % de matière sèche
Cellulose	15
Amidon	12
Matières azotées totales	5-7
Matières grasses	2
Cendres	16-18
Oxalates	13
Calcium	2-4
Phosphore	0.2

II.1.3.Composition chimique des fleurs:

Dans le Maghreb et au Moyen-Orient le traitement des diarrhées, des coliques, et de la dysenterie se fait par l'infusion des fleurs d'*Opuntia*. Le Nopal a une action sédatrice (calmante) dans toutes les affections qui s'accompagnent d'impressions oppressives telles que l'angine de poitrine, les spasmes cardiaques, les maux de tête, d'estomac, ou psychologiques : angoisse, peur, inquiétude chronique, spasmophilie, et hypocondrie.

Le suc de la fleur de l'*Opuntia* est plus visqueux que celui des raquettes. Il contient à peu près les mêmes principes que la tige auxquels on peut ajouter des dérivés flavoniques. Sa teneur en cendres avoisine 9 %. Elles comportent 30% de silice et 14% de chaux. [5]

Les fleurs sont utilisés dans la phytothérapie car ils contiennent des flavonoïdes, dont les chercheurs modernes attribuent leurs propriétés antispasmodiques léger de l'intestin, ainsi que diurétiques, les capsule des corolles des fleurs séchées sont utilisés comme un remède du dysfonctionnement de la prostate, une amélioration de malaises associés à l'hypertrophie bénigne de la prostate. [41]

Tableau 7 : Composition moyenne de la fleur d'*Opuntia* . [21]

Constituants	Pourcentage (% en poids par rapport à la masse sèche)
Cires	9-11
Minéraux (cendres)	7-8
Lignine Klason	2-3
Cellulose	27
Protéines	8-10
Autres polysaccharides	40-45

Tableau 8 : Composition de la fleur en sucres neutres et acides. [21]

Constituants	Pourcentage (%) en poids par rapport à la masse sèche
Acide uronique (AU)	35,6
Rhamnose (Rha)	3,3
Arabinose (Ara)	9,3
Xylose (Xyl)	4,5
Mannose (Man)	1,6
Galactose (Gal)	8,4
Glucose (Glu)	29,3

II.1.4.Composition chimique des graines:

Les graines du cactus ont suscité ces dernières années beaucoup d'intérêt et les études se sont multipliées pour caractériser leur constituants afin d'évaluer surtout leur valeur nutritive (tableau n° 9). Cependant, l'attention s'est focalisée surtout sur les huiles contenues dans ces graines. [42]

Les graines qui sont l'objet de notre travail sont riches en sels minéraux et acides aminés soufrés et elles sont caractérisées par une grande teneur, protéine, fibre brute, cendres, glucides et l'huile brute.

Cette huile qui appartient à la catégorie des huiles « polyinsaturées » comme la plupart des huiles végétales. Elle est composée de 65% d'acides gras essentiels, majoritairement d'acide linoléique et d'acide oléique (tableau n°11).

Par contre sa particularité réside dans sa richesse en matière insaponifiable (stérols et tocophérols). Cette caractéristique pourrait être un bon atout pour son exploitation dans le domaine de la cosmétologie étant donné les effets bénéfiques de ces substances sur l'élasticité de la peau, le métabolisme cellulaire et la restauration de la structure cutanée. [21]

Tableau 9 : Composition chimique des graines des figes de barbarie. [21]

Constituant	Pourcentage (%)
Eau	5-6
Huile	7-8.5
Minéraux	1.3
Lignine Klason	18
Protéines	11-12
Cellulose	30
Autres polysaccharides	27

Les parois cellulaires sont constituées principalement de polysaccharides. L'hydrolyse acide permet de déterminer la composition en oses neutres et acides renfermés dans le péricarpe de la graine de la fige de barbarie les résultats sont regroupés dans le tableau suivant. [6]

Tableau 10: Composition en oses neutres et acide de la graine d'*Opuntia*. [6]

Sucres neutres et acides	Le (%) massique
Acide uronique (AU)	1 ,1
Rhamnose (Rha)	0,6
Arabinose (Ara)	3,1
Xylose (Xyl)	23,8
Mannose (Man)	1,0
Galactose (Gal)	1,0
Glucose (Glu)	35 ,6

Tableau 11 : Composition en acides gras de l'huile des graines d'*Opuntia*. [43]

Acide gras	Proportion (%)
Acide laurique (C12 :0)	0.11
Acide myristique (C14 :0)	0.22
Acide palmitique (C16 : 0)	13.83
Acide palmitoleique (C16 : 1)	0.91
Acide heptadecanoïque (C17 :0)	0.03
Acide heptadecenoïque (C17 : 1)	0.04
Acide stéarique (C18 : 0)	3.16
Acide oléique (C18 : 1)	19.77
Acide linoléique (C18 : 2)	60.61
Acide linolénique (C18 :3)	0.74
Acide arachidique (C20 : 0)	0.34
Acide eicosénoïque (C 20 : 1)	0.24
Acides saturés	17.69
Acides insaturés	82.31

II.2.Extraction de l'huile de la figue de barbarie :

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits à haute valeur ajoutée présents dans les plantes. Ces techniques peuvent être dites conventionnelles (utilisées depuis longtemps) et nouvelles (développées plus récemment). [44]

L'huile de Figue de Barbarie est une huile très précieuse et très rare, son coût vient du rendement très faible il n'y a que 6% d'huile dans la petite graine d'*Opuntia ficus-indica* obtenue par pression à froid, il faut donc traiter environ 800 kg de figues pour obtenir 1 litre d'huile, un chiffre toutefois variable en fonction des paramètres précités mais aussi de la performance des équipements mis en œuvre et du traitement réservé aux graines.

II.2.1. Procédés d'extraction :

L'obtention des huiles à partir des substances naturelles se fait par différentes techniques d'extraction, qui consistent à retirer une ou plusieurs espèces chimiques d'un milieu solide ou liquide. Le procédé d'extraction repose sur les différences de solubilité des composés d'un mélange dans un solvant, il existe plusieurs techniques d'extraction, parmi ces dernières nous pouvons mentionner les méthodes suivantes :

a. Extraction par soxhlet :

L'extraction par soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide, simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec un solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première. [45]

L'avantage de cette technique est que l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui l'aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction.

L'appareil soxhlet est composé d'une colonne en verre (figure 4), dans laquelle est placée une cartouche en papier-filtre épais ou en cellulose, d'une matière pénétrable pour le solvant, d'un tube siphon et un autre de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction surmonter par un réfrigérant. Le ballon est chauffé, provoquant l'évaporation du solvant qui passe dans le tube adducteur, puis se condense grâce au réfrigérant, et retombe dans le corps de l'extracteur.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon et retourne dans le ballon, accompagné des substances extraites. Ainsi, le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement de composés solubles, principalement l'huile.

b. Extraction par pression à froid :

L'extraction par pression à froid sert à un passage des graines dans une presse à huile à vis qui provoque une pression croissante à environ 60°C ; l'huile récupérée a été décantée, pesée puis conservée à -20°C.

Cette technique permet la préservation de la teneur en acides gras essentiels et en anti-oxydants naturels, et par conséquent évite une altération des propriétés de l'huile. Le processus d'écrasement des graines oléagineuses pour en extraire l'huile qu'elles contiennent est divisé en deux types de pressage mécanique (continu et discontinu).

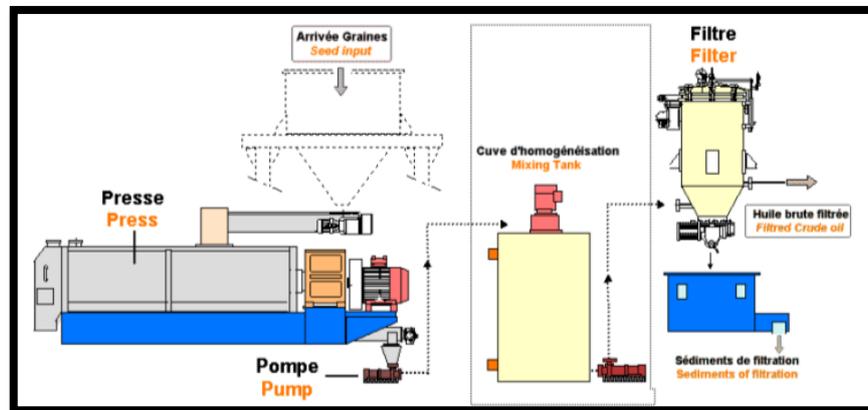


Figure 4 : Principe d'une extraction par pression à froid.

c. Extraction par fluide supercritique :

L'extraction par fluide supercritique et plus particulièrement par le CO₂ supercritique a été introduite comme alternative à ces procédés d'extraction par solvants. [46]

Il s'agit d'une technique sans résidu, qui utilise le CO₂, présentant les propriétés les plus satisfaisantes il est peu coûteux et disponible à une pureté élevée, sa pression (74 bar) et sa température (31°C) critiques sont relativement faciles à atteindre, il est inerte, non inflammable et non-toxique, et en dehors des applications radioactives il est chimiquement stable. [47]

Elle permet également de récupérer un extrait le plus naturel possible, sans solvant, garantissant la préservation de tous les principes actifs avec une durée d'extraction plus courte, une sélectivité élevée et la facilité d'éliminer le solvant après l'extraction par simple décompression. [48]

La méthode repose sur les propriétés particulières des fluides dans des conditions de température et de pression données, telles qu'ils aient à la fois des propriétés de gaz (pénétration dans la matière à extraire) et des propriétés liquides (dissolution de ce qui est à extraire, et notamment des molécules liposolubles). De plus, elle permet d'éviter toute dégradation de la molécule recherchée (les températures de travail sont basses), la sélectivité est meilleure, mais le coût est généralement très important. [49,50]

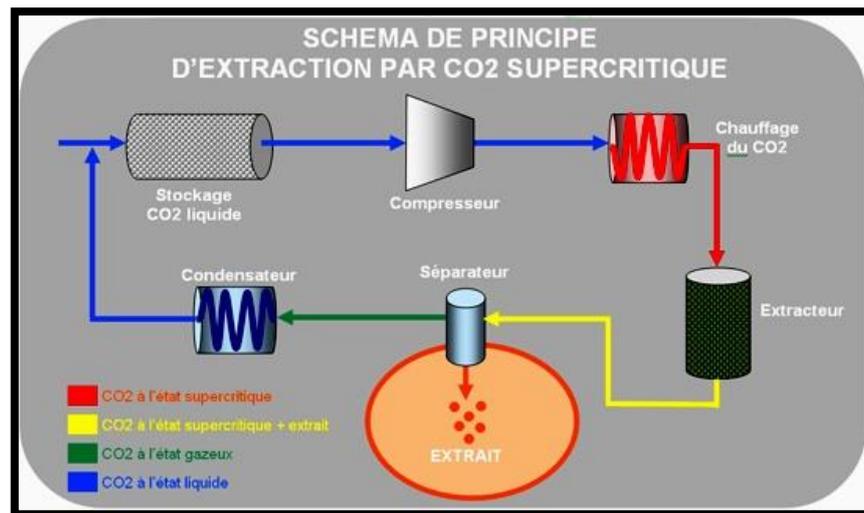


Figure 5 : Principe d'une extraction par CO₂ supercritique.

II.3. Caractéristiques physico-chimiques :

Nous avons déterminé quelques indices chimiques qui caractérisent les matières grasses. Pour ce faire, nous avons utilisé les normes AFNOR. [51]

Ces indices permettent de faire quelques estimations sur les masses moléculaires moyennes des acides gras déterminés par l'indice de saponification (I_S), sur le nombre des insaturations par la mesure de l'indice d'iode (I_I) et sur la teneur en acides gras libres par la détermination de l'indice d'acide (I_A), sur la teneur d'oxydation débutante de l'huile par l'indice de peroxyde (I_P). Nous avons également déterminé quelques caractéristiques physiques telles que l'indice de réfraction et la densité.

II.3.1. Indice d'acide (I_A) :

L'indice d'acide d'un corps gras est la quantité de potasse exprimée en milligramme nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras. C'est un dosage qui nous permet de connaître le degré d'altération de l'huile et d'estimer le taux d'acides gras libres dans l'huile exprimé en acide oléique. [52]

La détermination de l'indice d'acide est réalisée en utilisant la norme (AFNOR NFT60-204), et le principe consiste à un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant :



Schéma 1 : Réaction de neutralisation acido-basique

II.3.2. Indice de saponification (I_S) :

Il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour la saponification d'un gramme de corps gras suivant la réaction chimique suivante :

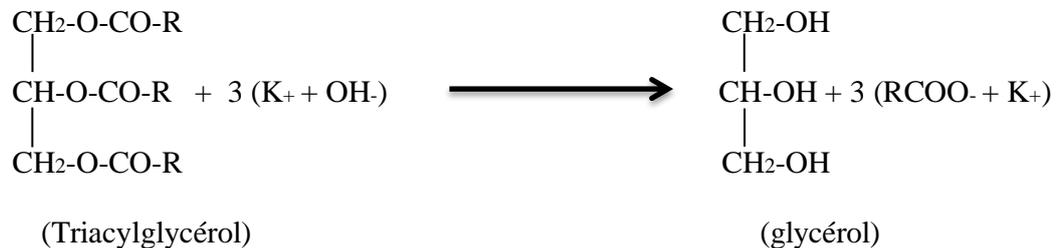


Schéma 2 : Réaction de saponification des Triacylglycérols.

La valeur de l'indice de saponification nous permet d'estimer les longueurs des chaînes de carbone des acides gras constituant l'huile d'une part, et de calculer les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides qui renferment l'huile, il est d'autant plus élevé que la chaîne des acides gras est courte.

II.3.3. Indice d'estérification (I_E) :

L'indice d'ester d'un lipide est la masse d'hydroxyde de potassium (KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire pour saponifier les acides gras estérifiés contenus dans un gramme de corps gras. Cet indice n'est pas mesuré, il est calculé et déduit par les valeurs des deux indices précédents.

II.3.4. Indice d'iode (I_I) :

L'indice d'iode est la masse de diiode (I_2) exprimée en gramme capable de se fixer sur les insaturations des acides gras de 100g de matière grasse. [53]

Expérimentalement, il est déterminé par la méthode de Wijs ; ce réactif s'additionne quantitativement sur les insaturations selon la réaction :



Le réactif de Wijs qui n'est pas fixé sur les doubles liaisons, c'est-à-dire en excès, est détruit lors de l'addition d'une solution d'iodure de potassium pour former le di-iode. L' I_2 formé est alors titré par une solution de concentration connue de thiosulfate de sodium.

II.3.5. Indice de peroxyde (I_p) :

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalent d'oxygène contenu dans un kilogramme de produit qui permet d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode. [54]

Ce principe repose sur le traitement du corps gras en solution dans de l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium, suivi d'un titrage de l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium.

II.3.6. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction est particulièrement utile car il renseigne sur l'état de dégradation d'une huile. En effet, la présence d'acides gras libres abaisse fortement l'indice de réfraction. Sa mesure consiste à déterminer le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile à une température constante (souvent 20°C), en utilisant un réfractomètre par lecture directe. Le réfractomètre est conçu pour donner par lecture directe après l'avoir étalonné par l'eau distillée à la même température. [55]

II.3.7. la Densité :

La densité désigne le rapport de la masse d'un volume donné d'huile, et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température. Sa mesure est déterminée à l'aide d'un pycnomètre muni d'un thermomètre étalonné à 20°C. [55]

II.4. Les acides gras :

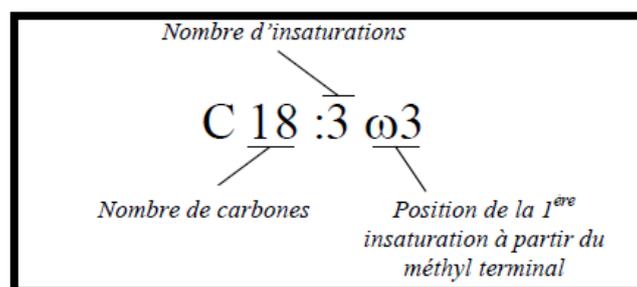
Les acides gras sont des acides carboxyliques R-COOH dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras). Ils n'existent pratiquement pas à l'état libre dans les cellules et les tissus, mais combinés sous forme d'esters.

II.4.1. Données générales :

La grande majorité des acides gras naturels présentent les caractères communs suivants:

-Monocarboxylique, chaîne linéaire avec un nombre pair de carbones, saturé ou partie non saturé avec un nombre de doubles liaisons maximales de 6. [56]

Ces acides gras, généralement non ramifiés, diffèrent entre eux par la longueur de leur chaîne, la présence, le nombre et la position de leurs doubles liaisons. La nomenclature abrégée des acides gras permet de les classer simplement.



Nous observons une prédominance très marquée des acides de 16 à 18 atomes de carbone dans le règne végétal. La double liaison, lorsqu'elle existe, est plus généralement de configuration *cis*. La plupart des organismes vivants sont capables de synthétiser des AG mono-insaturés par désaturation des AG saturés correspondants. [57]

On distingue 3 classes qui se différencient par leur degré d'insaturation : les acides gras saturés, mono insaturés et polyinsaturés.

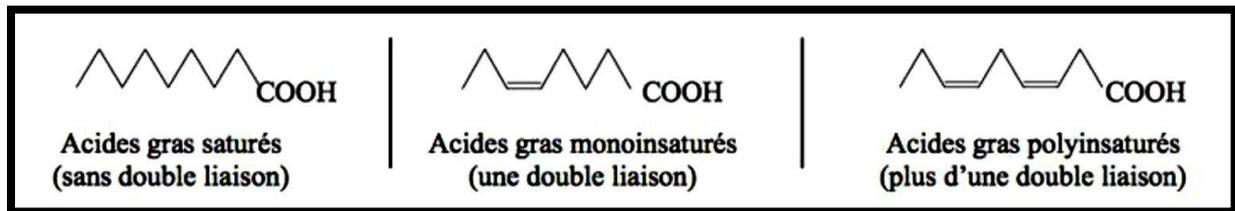


Figure 6 : Classes d'acides gras.

- **Les acides gras les plus généralement rencontrés sont :**

En série saturée, l'acide palmitique (C16: 0), et l'acide stéarique (C18: 0) sont les plus fréquents dans les huiles végétales, alors que les acides laurique (C12: 0), myristique (C14: 0), et arachidique (C 20: 0) ne sont rencontrés généralement qu'à l'état de trace. En série mono-insaturée, l'acide oléique (C18: 1) est l'acide gras le plus répandu dans la nature ; on le trouve dans tous les lipides végétaux. En série poly-insaturée, il faut citer l'acide linoléique (C18: 2), l'acide arachidonique (C 20: 1), et l'acide linoléique (C18: 3). L'acide linoléique et l'acide oléique, sont parmi les constituants les plus rencontrés dans les huiles végétales. Les AG poly-insaturés sont intéressantes sur le plan nutritionnel. Certains d'entre eux jouent un rôle vital dans la cellule, d'où leur dénomination d'acides gras essentiels (AGE) : il s'agit des acides linoléiques (série n-6) et -linoléique (série n-3). Ces AGE doivent être apportés par l'alimentation car ils ne sont pas synthétisés par l'organisme humain, jouant un rôle préventif vis-à-vis des troubles du métabolisme et des maladies cardiovasculaires ainsi qu'une action sur la structure des membranes biologiques et de certaines de leurs fonctions. [58]

Ceci explique l'intérêt croissant des AGE en cosmétologie et en agroalimentaire

II.4.2. Analyse des acides gras :

Les acides gras étant les constituants essentiels des triglycérides, c'est par leur connaissance que l'analyste peut déterminer les caractéristiques d'identité des corps gras selon la présence ou non de certains acides gras ainsi que les proportions des acides gras entre eux. Les acides gras peuvent être analysés sous forme libre, mais généralement se sont analysés qu'après leurs transformations en leurs esters méthyliques (EMAG), qui sont plus volatils. [59]

Les méthodes d'estérification sont nombreuses. Le choix s'effectuera en fonction des acides gras à analyser : présence d'acides gras libres, d'acides gras à chaîne courte, acides gras à fonction

alcools ou acides. La plupart des méthodes d'estérification se réalisent en présence d'un excès d'alcool.

Il est possible d'utiliser l'alcool méthylique, éthylique, propylique, isopropylique, ou encore butylique, de façon à former des esters ayant des températures d'ébullition plus élevées. L'alcool le plus généralement utilisé étant le méthanol, on parle des esters méthyliques d'acides gras (EMAG).

II.4.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (FAME) :

Les techniques de préparation des esters méthyliques sont relativement nombreuses. [60]

- **Méthode au triméthyl hydroxy sulfonium TMSH [(CH₃)₃SOH]**

La présence de TMSH, les triglycérides sont estérifiés au moment où ils pénètrent dans l'injecteur du système chromatographique (250 °C). Le grand avantage de cette méthode est la simplicité de la préparation de l'échantillon. Ainsi on obtient, par transestérification, les esters méthyliques des acides gras, à partir des lipides ou des triglycérides.

- **Méthode générale au tri fluorure de bore BF₃/ CH₃OH**

Le corps gras en premier temps est saponifié en présence de potasse alcoolique, l'estérification et ensuite réalisée en présence de BF₃ et le méthanol. [61,62]

Après l'addition de l'eau, les esters sont récupérés à l'aide d'un solvant.

- **Estérification en milieu acide**

Il est possible d'obtenir des esters en milieu H₂SO₄/alcool, en ampoule scellée à chaud (bain marie).

- **Méthode applicable aux corps gras neutres (ou ayant une faible acidité)**

La réaction s'effectue à chaud en présence de potasse méthanolique environ 1N et les esters étant récupérés par un solvant (pentane, hexane) après addition de l'eau.

- **Méthode à froid (corps gras à chaîne courte)**

Dans le cas des corps gras possédant des chaînes courtes (acide butyrique) il est nécessaire d'opérer à froid, dans un tube ou ampoule fermée on solubilise les triglycérides dans le pentane puis on l'estérifie par la potasse méthanolique environ 2N par agitation.

- **Méthode applicable aux corps gras acide et acide gras**

C'est une méthode au méthanol/ H₂SO₄ dans un ballon ou ampoule scellée pendant 25min.

II.4.4. Analyse par Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

C'est une technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (Ir). L'appareillage

est composé d'un injecteur diviseur où sera placé l'échantillon à analyser, d'une colonne capillaire de plusieurs mètres, et d'un détecteur. Le principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire (figure 7). La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. [63]

II.4.5. Analyse par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse GC-MS :

Le but est de combiner entre les performances de la chromatographie en phase gazeuse et celle de la spectrométrie de masse, après séparation chromatographique des composés d'un échantillon, une deuxième dimension analytique est ajoutée à la chromatographie pour la détection et l'identification de ces composés. [64]

Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel ils vont être fragmentés en ions de masse variables, et la séparation sera en fonction de de leur rapport masse sur charge. [65,66]

L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (I_r) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. [67]

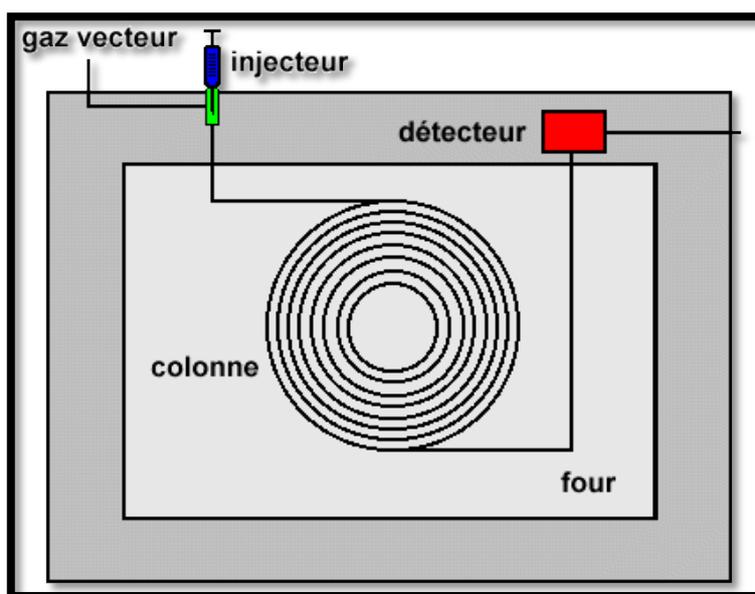


Figure 7 : Schéma d'un appareil à chromatographie en phase gazeuse.

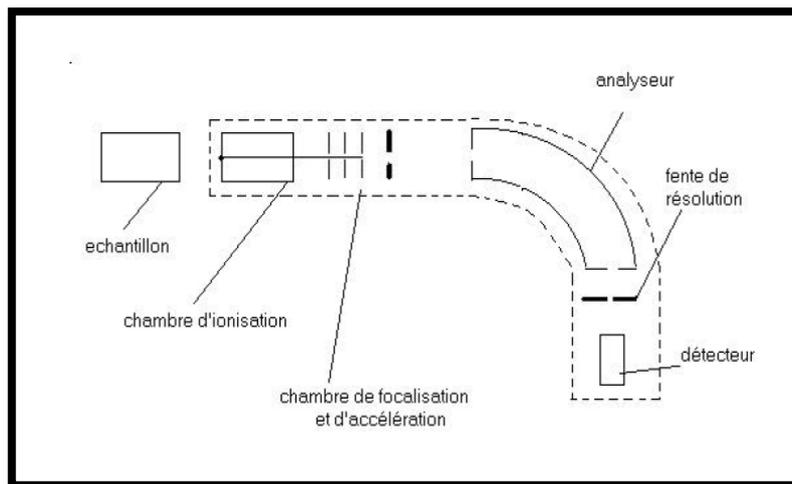


Figure 8 : Schéma d'un spectromètre de masse.

II.5. Etude des tocophérols :

Les tocophérols sont généralement des constituants mineurs de la fraction insaponifiable des corps gras végétaux ; leur présence a été déterminée pour la première fois par EVANS dans l'huile de germe de blé. Ils possèdent un pouvoir vitaminique (vitamine E) lié aux propriétés antioxydantes. Ils existent principalement sous forme monomère. [68]

II.5.1. Données générales :

Les tocophérols sont des composés classés dans le groupe des vitamines liposolubles (vitamine E de fertilité), la forme monomère présente l'activité vitaminique la plus importante, tandis que l'isomère est plus efficace comme antioxydant, il économise l'oxygène de la respiration cellulaire en protégeant les substances oxydables. De plus, il intervient dans le métabolisme des graisses en empêchant la dégradation des acides gras. [53,69]

La recherche médicale a démontré les effets bénéfiques de la vitamine E, entre autres dans le retard de l'évolution de l'infection par le virus HIV en SIDA clinique et dans la réduction des symptômes qui y sont associés. Des études cliniques sont requises pour illustrer les effets bénéfiques potentiels de ces nutriments dans la prolongation de la période asymptomatique de l'infection par le virus HIV en combinaison avec un traitement par un médicament antiviral chez les patients souffrants du SIDA. [70]

La vitamine E a une action sur l'agrégation plaquettaire, dont le déficit de cette dernière induit des microthromboses, elle protège aussi les membranes érythrocytaires contre l'action de la peroxydase de l'hémoglobine sur les acides gras désaturés. Elle Exerce un effet régulateur sur la synthèse de l'hème et des enzymes héminiques comme le cytochrome et la catalase. [71]

II.5.2. Structure chimique :

Ce sont des composés phénoliques possédant un noyau chromane portant en carbone 2 une chaîne latérale tri-isopropénique saturée dans le cas des tocophérols, et tri-insaturée dans le cas des tocotriénols. [72]

La substitution du noyau aromatique par des groupements méthyles conduit aux huit combinaisons naturelles données (figure 9). Dont l'alpha tocophérol est le plus fréquent et le plus actif biologiquement, et le bêta et gamma tocophérol représente une activité vitaminique réduite (respectivement 30 et 15% environ de l'activité d'alpha tocophérol. [73]

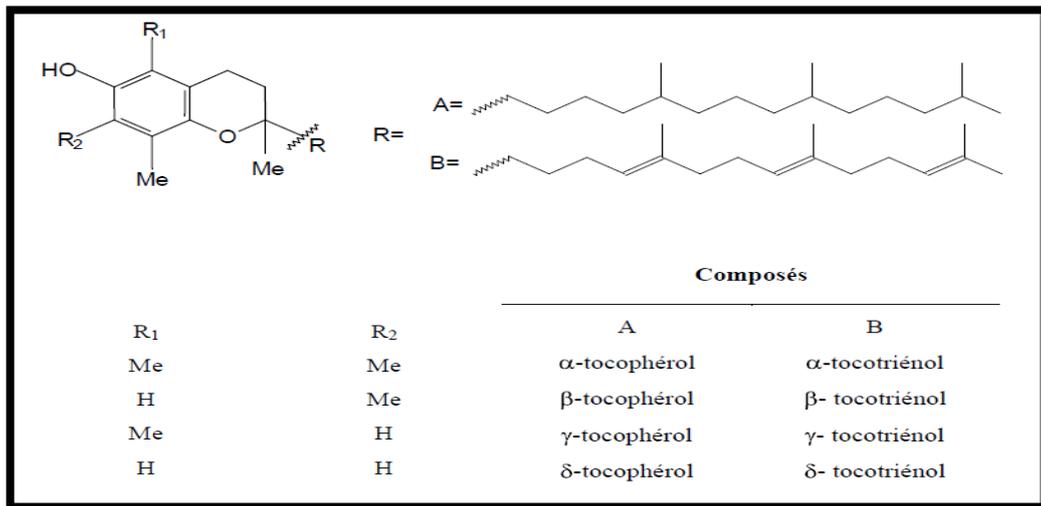


Figure 9 : Structure des différents tocophérols et tocotriénols.

II.5.3. Dosage des tocophérols totaux :

Nous avons adopté la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel. [74]

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les tocophérols, et le fer ferrique (Fe^{3+}) qui est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}), ce dernier en présence de réactifs spécifiques comme l'orthophénantroline, forme un complexe rouge-orangé stable, dont le coefficient d'extinction molaire à 510 nm est très élevé. Ce dosage peut être réalisé soit à partir de l'insaponifiable, soit à partir de l'huile. [62,75]

II.6. Etude des stérols :

Les phytostérols sont présents dans la fraction lipidique, dans les huiles de graines ou de fruits, ils sont généralement présents en faibles teneurs. Ils peuvent être rencontrés sous forme libre ou combinée. Les stérols constituent une fraction importante de l'insaponifiable. [76]

Ils sont étudiés en raison de leur diversité structurale, et de leur gamme étendue d'effets thérapeutiques, telles que anticholestérolémique, antitumorale, antidiabétique, et anti-inflammatoire, et également en raison de leur faible toxicité. [77]

II.6.1. Données générales :

Les stérols sont des alcools polycycliques à point de fusion élevée. Ils sont stables, sans odeur et sans goût, ils sont relativement inertes et contribuent peu aux propriétés des huiles bien qu'ils les caractérisent mieux que ne le font les acides gras. [78]

Les stérols sont universellement répandus chez les êtres vivants, aussi bien dans le règne animal que dans le règne végétal, car les animaux sont capables de synthétiser certains stérols. La plupart des organismes eucaryotes ont besoin de stérols, qui ont un rôle architectural, et interviennent comme une partie intégrante des membranes cellulaires. On les trouve également chez les micro-organismes.

Le stérol le plus abondant dans le règne végétal est sans conteste le sitostérol suivi du campestérol, puis du stigmastérol et enfin le Δ^5 -avénastérol. [79]

Le cholestérol étant l'exemple le plus répandu des stérols. D'autres peuvent être contenu dans l'alimentation. En effet, chez les végétaux, les structures stéroliques sont beaucoup plus nombreuses, certaines semblent d'ailleurs caractéristiques d'une famille. Ainsi les stérols ont un rôle chimiotaxonomique beaucoup plus fin que d'autres composés lipidiques comme les acides gras. Le cholestérol, longtemps considéré comme exclusivement animal, a été mis en évidence chez de nombreux végétaux, cependant en petite quantité par rapport aux autres stérols. [80,81]

II.6.2. Structure chimique :

Les stérols se sont des tétracycliques comportant les plus souvent 27, ou 28 et même parfois 29 atomes de carbone, ils diffèrent de leurs précurseurs biosynthétiques. Le squelette de base est un noyau cyclopentanophéranthène (figure 10).

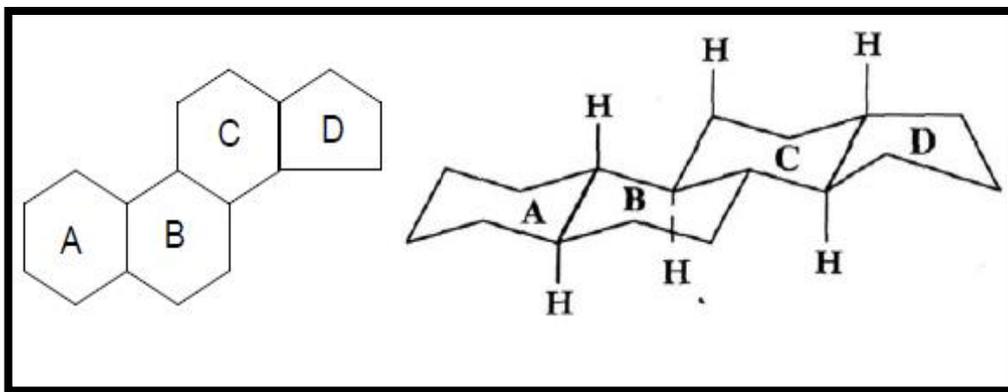


Figure 10 : Structure du noyau cyclopentanophéranthène.

Le noyau tétracyclique possède le plus souvent une double liaison localisée fréquemment en position 5, mais que l'on peut rencontrer en 7 (figure 11).

La chaîne latérale possède huit à neuf ou dix atomes de carbone; elle peut être saturée ou comporter en 22, 24(25), 24(28) ou 25 (27) une ou deux doubles liaisons qui ne sont jamais conjuguées.

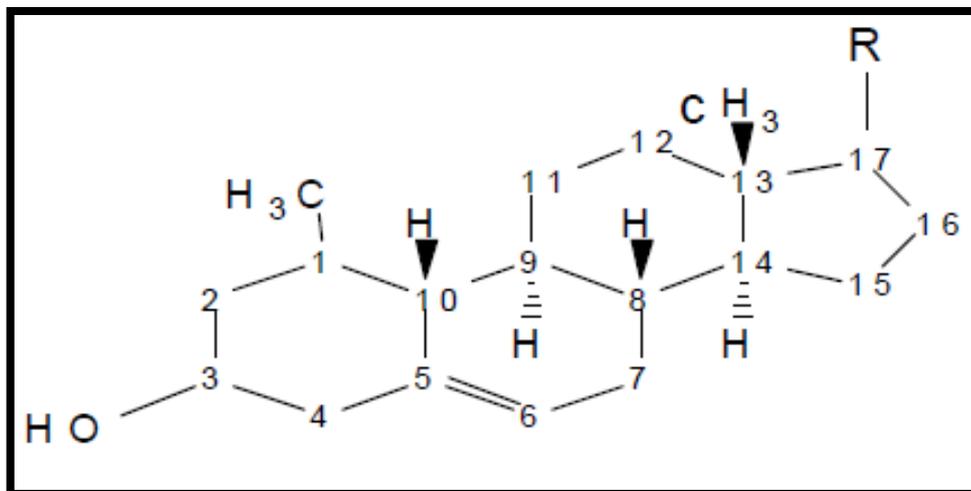


Figure 11 : Structure de base des stérols. [82]

Tableau 12 : Les stérols contenant dans l'huile des graines de figue de barbarie. [83]

Stérols	Nom systématique	Structure
β-sitostérol	17-(5-éthyl-6-méthylheptan-2-yl)-10,13-diméthyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodécahydro-1H-cyclopenta[a]phénanthrén-3-ol	
Campestérol	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(2R,5R)-5,6 diméthylheptan-2-yl]-10,13-diméthyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodécahydro-1H-cyclopenta[a]phénanthrène-3-ol	
Stigmastérol	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-éthyl-6-méthylhept-3-én-2-yl]-10,13-diméthyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodécahydro-1H-cyclopenta[a]phénanthrén-3-ol	

II.6.3. Dosage des stérols :

Il s'agit d'une absorption spectrophotométrique suivant le test de Liebermann-Burchard basé sur une réaction colorée spécifique des 3 β -hydroxystéroïdes possédant une double liaison en position 5-6.

Les stérols forment un complexe stable avec l'anhydride acétique en milieu acide qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 550 nm. A partir d'une solution chloroformique de cholestérol on prépare une série de gamme de solutions afin de tracer une courbe d'étalonnage liant la densité optique en fonction de la concentration. [82,84]

II.7. Etude des caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont des isoprénoïdes (composés dérivés d'isoprènes) (figure 13) généralement à 40 carbones, constituent le groupe le plus répandu parmi tous les pigments naturels et sont responsables des couleurs appétissantes de nombreux fruits et légumes. [85]

Ces pigments sont synthétisés dans les plastes, grâce à des réactions enzymatiques.



Figure 12 : Structure chimique d'isoprène.

II.7.1. Données générales :

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles synthétisés par les végétaux à qui ils attribuent une couleur orange, rouge ou jaune, à ce jour, plus de 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais seulement une quarantaine est retrouvée régulièrement dans l'alimentation humaine. Une trentaine de ces caroténoïdes et leur métabolites a été identifiée dans le plasma, et les tissus humains, mais 6 pigments parmi eux sont majoritaires et plus importants : β -carotène, α -carotène, le lycopène, la lutéine, la zéaxanthine, et la β -cryptoxanthine (figure 13). [86]

Les caroténoïdes, qui comprennent entre autres le lycopène et le bêta-carotène ou provitamine A, ont un effet protecteur et sont indispensables au maintien d'une bonne santé, parmi les biens fait de la provitamine A : réguler le système immunitaire, la croissance des cellules épithéliales, la croissance des os, la reproduction, et permet une bonne vision. Seuls les végétaux et les microorganismes sont capables de synthétiser les caroténoïdes. Ils s'accumulent dans les chloroplastes et les tissus photosynthétiques. Les caroténoïdes (provitamine A) sont présent dans

les légumes, feuilles vertes foncées, les fruits de couleur jaune, orange, et rouge, les racines de couleur jaune et orange, et l'huile de palme. [87]

Parmi les fruits et légumes riches en caroténoïdes on cite souvent : les carottes, les épinards, les tomates, les navets, les laitues et les brocolis. [88]

Outre leur fonction de provitamine A, les caroténoïdes possèdent des propriétés antioxydantes et antiradicalaires qui réduisent les risques de cancer, de maladies cardiovasculaires, cataracte, maladies du système nerveux central ou déficiences immunitaire. [89-91]

Ces caroténoïdes font de même partie des micronutriments qui participent aux défenses de l'organisme contre les espèces oxygénées réactives. Ce sont essentiellement des piègeurs de l'oxygène singulet, mais peuvent également neutraliser des radicaux libres. Le piègeur d'oxygène singulet le plus efficace est le lycopène. Au niveau cellulaire, la lutéine est le caroténoïde qui protège le mieux de la peroxydation lipidique suivie du lycopène et de la canthaxanthine, l' α -carotène et le β -carotène étant les moins actifs. Les caroténoïdes servent de colorants naturels non toxiques dans les industries agroalimentaires. Ils peuvent aussi intervenir sous la forme de provitamine A dans la formation du pourpre rétinien, la reproduction, la résistance de l'organisme aux infections et la croissance des tissus. [92]

II.7.2. Structure chimique :

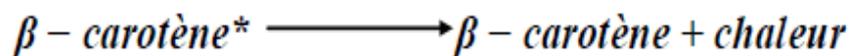
Le groupe des caroténoïdes comprend des molécules tétra-terpéniques (C₄₀) formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques se répétant par endroit de façon systématique par rapport au centre de la molécule et des radicaux méthyles. [88]

Ils possèdent un système de doubles liaisons conjuguées, ce dernier est responsable non seulement de la couleur des caroténoïdes qui varie du jaune au rouge foncé, mais aussi responsable de leur stabilité à l'oxydation. [91]

Comme il a été signalé précédemment, les caroténoïdes sont les molécules les plus efficaces pour piéger l'oxygène singulet par la désactivation de 1O_2 en 3O_2 (voir la réaction suivante).



Grâce au long système polyénique conjugué de ces molécules, l'excès d'énergie de leur état excité (β -carotène*) est dissipé au travers d'interactions vibrationnelles et rotationnelles avec le solvant ou leur environnement selon la réaction suivante.



Par ce mécanisme de dissipation de l'énergie sous forme de chaleur, le β -carotène régénéré peut réinitialiser un nouveau cycle de séquestration de l' O_2 et constitue de ce fait un piègeur non stœchiométrique. [93]

II.7.3. Dosage des caroténoïdes :

Le dosage est fait sur l'huile brute, la concentration des caroténoïdes est estimée en mg/100g du corps gras on se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant le β -carotène (vitamine A). La teneur en caroténoïdes totaux des extraits est déterminée selon la méthode rapportée par *Talcott et Howard*, pour l'extraction des caroténoïdes, 2 g du corps gras sont homogénéisés et traités avec 25 ml du mélange acétone/éthanol (v/v), et 200 mg/l butyl- hydroxytoluène (BHT). La manipulation est réalisée à l'abri de la lumière car les caroténoïdes sont sensibles à cette dernière. [94]

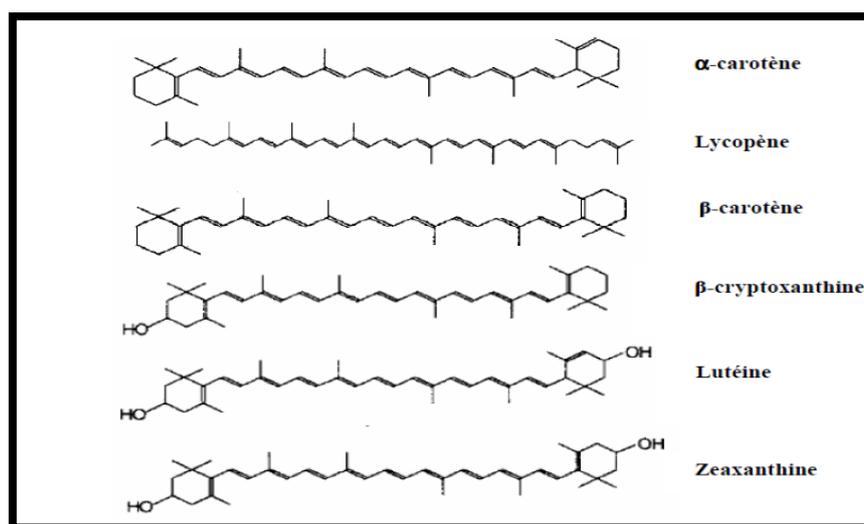


Figure 13 : Structure des principaux caroténoïdes. [93]

Tableau 13: La composition chimique des stérols, des vitamines liposolubles et de la β -carotène (g/kg) de l'huile de figue de Barbarie. [83]

Composés	Huile des graines	Huile de la pulpe	Composés	Huile des graines	Huile de la pulpe
Cholestérol	Nd	Nd	α -Tocophérol	0.056	0.849
Ergostérol	Nd	Nd	β -Tocophérol	0.012	0.126
Campstérol	1.66	8.74	γ -Tocophérol	0.330	0.079
Stigmastérol	0.30	0.73	δ -Tocophérol	0.005	4.220
Lanostérol	0.28	0.76	Total de la Vitamine E	0.403	5.27
β -Sitostérol	6.75	11.2	/	/	/
$\Delta 5$ -Avenastérol	0.29	1.43	β -Carotène	0.0407	0.420
$\Delta 7$ -Avenastérol	0.05	Nd	Vitamine K ₁	0.525	0.532

Nd : non détecté.

II.8. Etude des polyphénols :

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels que : les alcaloïdes, les terpènes, et les polyphénols. [95, 96]

II.8.1. Données générales

Les polyphénols regroupent plus de 8 000 molécules divisées en différentes classes chimiques qui ont en commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). [97, 98]

Les composés phénoliques constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal, on les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Le terme composé phénolique désigne de nombreuses substances regroupées en famille, les différents composés d'une même famille se différencient par la nature et la position des substituants fixés sur un squelette aromatique commun. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Leur structure varie depuis les molécules simples (acides phénoliques) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tableau n°14). [99]

Ils peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettent de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales. [95]

Les deux principales classes sont les composés non flavonoïdes et les flavonoïdes.

II.8.2. Les composés non flavonoïdes :

Les composés non flavonoïdes regroupent les acides phénoliques, les tanins, ainsi que les stilbènes. Ils ne possèdent pas de squelette «flavone».

II.8.3. Les composés flavonoïdes :

Le terme flavonoïde, utilisé pour la première fois par Geissman et Hinreiner regroupe tous les composés dont la structure est basée sur celle de la flavone, phényl-2 benzopyrone (figure15).

C'est un squelette constitué de quinze atomes de carbone (C₆-C₃-C₆) comportant deux cycles benzénique A et B reliés entre eux par une chaîne à trois atomes de carbone et un hétérocycle oxygéné (cycle C). [100]

Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4, 2, 4, 6 tétrahydrochalcone. [101]

Par action enzymatique, cette chalcone se métabolise en différentes classes de flavonoïdes la structure varie selon le degré d'oxydation du squelette de base et la position des substituants sur le noyau central. [102, 104]

Les flavonoïdes ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques plus de 6 000 composés chez les plantes. Ils sont responsables des colorations jaune, orange et rouge des végétaux (fruits, légumes et plantes médicinales). [105,106]

Ils se subdivisent en différentes classes (figure 16), dont on peut citer les flavones, les flavonols, les flavanones et les anthocyanes. [107]

Les anthocyanes sont répandus dans plusieurs fruits tels que les cerises, les myrtilles, le raisin, ils confèrent surtout aux végétaux une teinte (rouge, rose, mauve, bleue, violette...). Ils sont rencontrés aussi dans des légumes comme les racines de betterave et de radis, les bulbes d'oignon rouge et dans des boissons comme les jus de fruits, et le thé. [108]

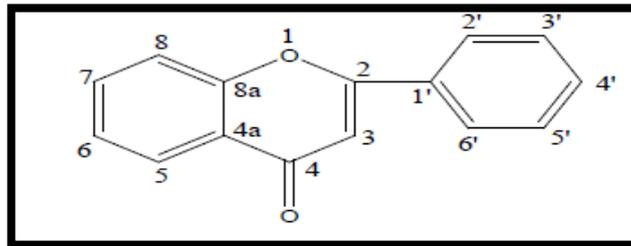


Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes la phényl 2-benzopyrone. [100]

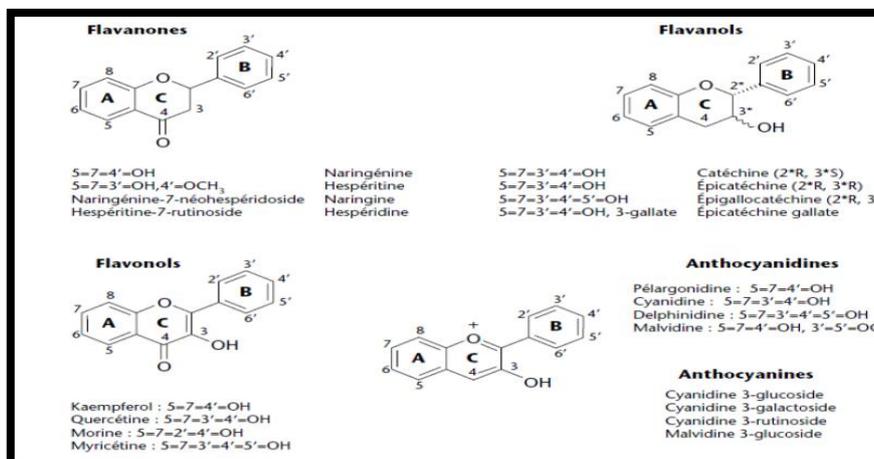


Figure 15 : Structure des principales classes des flavonoïdes. [93]

Tableau 14: Les principales classes des composés phénoliques. [109]

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)	Structure chimique
C6	Phénols simple	Catéchol ou Pyrocatéchol	Moules marines	
C6-C3	Acides phénoliques			
	Acides hydroxybenzoïques	Acide gallique	Dattes, bananes.	
	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique,	Pomme de terre, pomme	
C6-C2- C6	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus	
C6-C2- C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne	
C6-C3- C6	Flavonoïdes			
	Flavonols	Kamphérol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs	
	Anthocyanes	Cyanidine, pélagonidine	Fleurs, fruits rouges	
	Flavanols	catéchine	Pomme, raisin	
	Flavanones	Naringénine	Citrus	
	Isoflavonols	Daidzéine	Soja	
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol	Pin, graine de sésame	
(C15)n	Tanins			
	Tannins hydrolysables	Malvidine	Raisin	

II.8.4. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de *Singleton* et *Ross* en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. [110]

Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3Mo_{12}O_{40}P$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui sont réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_3 . La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations, et la quantité des composés phénoliques totaux est calculée en équivalent de cet acide.

II.8.5. Dosage des flavonoïdes totaux :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée est réalisable en utilisant la méthode de *Bahorun* basée sur la complication des flavonoïdes par l'Aluminium en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif dans cette méthode. [111 ,112]

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (le fer et l'aluminium). La quercétine a été utilisée comme un étalon pour tracer la courbe d'étalonnage.

II.8.6. Action et intérêt des polyphénols :

Les polyphénols présentent plusieurs activités telles que l'activité antioxydante, antivirale, anti-inflammatoire et anticancéreuse, ces activités sont attribuées en partie à la capacité de ces composés à réduire les radicaux libres mais aussi à leur affinité pour une grande variété de protéines dont certains enzymes et récepteurs. En tant qu'antioxydants, les polyphénols renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (lipides et autres macromolécules) contre le stress oxydant, le vieillissement cellulaire, leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas, de nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies chroniques associées, telles que cancers, maladies cardio-vasculaires ou dégénératives, l'ostéoporose. [113 ,114]

Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués. [95,115]

Des études cliniques récentes réalisées aux Etats-Unis et au Chili ont montré que les polyphénols améliorent le fonctionnement de l'endothélium, la couche cellulaire qui tapisse les surfaces des vaisseaux sanguins et qui joue un rôle essentiel dans le contrôle du bon fonctionnement du système vasculaire en réduisant les risques d'athérosclérose. [116]

Ils ont montré que les polyphénols limitent le développement de tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse. [117]

Ces substances présentent aussi des propriétés antimutagènes et antibactériennes non négligeables. [118,119].

Tableau 15 : Activités biologiques des composés phénoliques. [120]

Polyphénols	Activités
Acides Phénoliques	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses
Flavonoïdes	Anti tumorales, Anti carcinogènes Anti-inflammatoires, Antioxydantes Hypotenseurs et diurétiques
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes , Antitumorales Antifongiques, Anti-inflammatoires
Tannins	Antioxydantes

Chapitre III :

**APPLICATIONS BIOLOGIQUES
ET POTENTIALITES
THERAPEUTIQUES DES
EXTRAITS D'*OPUNTIA***

Chapitre III – Applications biologiques et Potentialités thérapeutiques des extraits d'*Opuntia*

Introduction sur l'**Ethnopharmacologie du figuier de barbarie :**

Le monde végétal est une source de molécules bioactives, L'ethnopharmacologie peut permettre la découverte de nouvelles substances actives pour l'industrie pharmaceutique.

Des principes actifs très employés à l'heure actuelle dans la médecine occidentale sont issus des savoirs populaires et traditionnels : des anticancéreux (vincristine, vinblastine), des antalgiques (morphine, aspirine), des antipaludéens (quinine, artémisinine), des psychotropes (réserpine, mescaline) ou encore des toniques et stimulants cardiaques (digitaline, quinidine).

La découverte de ces substances repose sur la constatation de l'efficacité de certaines plantes issues des différentes pharmacopées (européennes, indiennes ou chinoises), mais aussi et surtout à partir des observations réalisées sur l'utilisation de plantes au sein des médecines traditionnelles. Les produits naturels issus des végétaux supérieurs peuvent contribuer à la recherche de nouveaux médicaments.

Le figuier de barbarie appartient depuis toujours aux plantes médicinales les plus utilisées.

La recherche médicale moderne redécouvre avec un intérêt grandissant la plante et ses propriétés.

Elle étudie les molécules actives qui la composent et lui permettent de lutter efficacement contre quelques-unes des affections les plus graves de notre temps, comme la réduction de taux de sucre et de cholestérol dans le sang. [137]

Utilisée aussi comme régulant diurétique, et remède au dysfonctionnement de la prostate. [138]

Cette plante a aussi un effet comme traitement aux douleurs gastro-intestinales, l'angoisse, l'artériosclérose, la spasmophilie, le stress, aux brûlures et coups de soleil. Les scientifiques ont récemment observé les effets anticancéreux de la bétanine isolé de l'*Opuntia ficus-indica* sur la lignée de cellules K562 de la leucémie myéloïde chronique et sur des mélanomes (cancer de la peau) chez la souris. [139]

Le figuier de Barbarie est aussi utilisé dans de nombreux pays grâce à ses propriétés amaigrissantes.

L'huile essentielle des graines des fruits du cactus sont riches en acides gras polyinsaturés, en stérols et en vitamines, elle est utilisée comme antiride naturel et pour la fabrication des crèmes dermiques antirides. [140.141]

III.1. Etude de l'activité antioxydante dans le monde végétal :

Les plantes, comme tous les êtres vivants, ont à se défendre contre les agressions de l'oxygène. Pour ce faire, elles ont développé tout un ensemble de substances, dont certaines ont pérennisé jusque dans le règne animal, tandis que d'autres constituent aujourd'hui des originalités propres aux végétaux.

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Elles disposent de moyen de défense, les uns sont d'origine endogène, comme des enzymes, et d'autres sont apportés par l'alimentation, la vitamine E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. La vitamine piégeuse va

devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ce type d'antioxydant est appelé piègeur ou éboueur (« scavenger » pour les Anglo-saxons). De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement : polyphénols, alcaloïdes, phytates. [121]

Les systèmes enzymatiques intervenant selon ce mécanisme présentent un fonctionnement en chaîne. Les enzymes impliquées sont la superoxyde dismutase (SOD), une enzyme cupro-dépendante qui élimine le radical superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène, la glutathion peroxydase et la catalase, qui éliminent le peroxyde d'hydrogène, la glutathion réductase, qui régénère le glutathion réduit, et la glucose-6-phosphatase qui fournit les liaisons riches en énergie nécessaires au fonctionnement de la chaîne de réactions. [122]

III.1.1. Définition d'un antioxydant :

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Le corps produit des antioxydants, et on en trouve également dans plusieurs aliments. Les principaux antioxydants sont les vitamines C et E, les caroténoïdes et le sélénium. Également, les antioxydants permettent de faire en sorte que nos produits alimentaires conservent leur goût, couleur et demeurent longtemps comestibles. Leur utilisation est particulièrement importante si l'on veut éviter l'oxydation des lipides et des produits contenant des lipides.

III.1.2. Les principaux antioxydants :

III.1.2.1. Les antioxydants synthétiques :

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (**BHA**), butylhydroxytoluène (**BHT**), gallate propylée (**PG**) et le tetra-butylhydroquinone (**TBHQ**) (figure 16) sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces, et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture. [123]

III.1.2.2. Les antioxydants naturels :

L'utilisation empirique d'antioxydants naturels est une pratique très ancienne pour la conservation des vivres. La recherche de nouveaux antioxydants naturels, connaît depuis ces dernières années un regain d'intérêt, car les antioxydants synthétiques actuellement utilisés, notamment le (**BHT**), et le (**BHA**) ne seraient pas dépourvus de toxicité.

Les multiples atouts santé des fruits et légumes sont liés à leur faible teneur calorique, à leur richesse en fibres, minéraux, vitamines et autres micronutriments. Certains de ces micronutriments, apparaissent de plus en plus clairement comme essentiels au fonctionnement en participant à la protection de notre organisme contre les cancers, les maladies cardio-vasculaires et les autres maladies dégénératives. C'est le cas des antioxydants dont les fruits et légumes constituent l'une des principales sources alimentaires. Les principaux antioxydants végétaux sont au nombre de quatre (tableau n°16).

L'homme ingère avec ses aliments environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E et l'on estime que les fruits et légumes contribuent pour moitié à ces apports. [124]

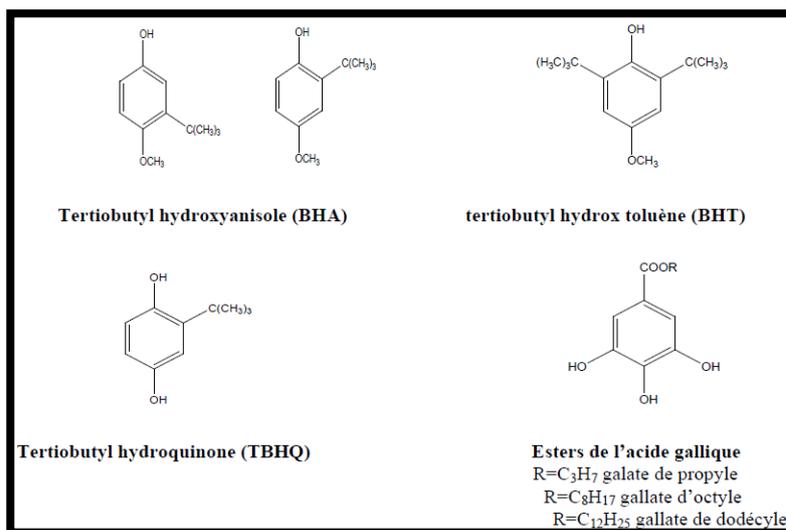


Figure 16 : Quelques antioxydants de synthèse.

Tableau 16 : Les quatre principaux types d'antioxydants végétaux.

Antioxydant	Structure chimique
Vitamine C	
Vitamine E	
Polyphénols	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> Quercétine, un flavonol </div> <div style="text-align: center;"> Catéchine, un flavonol </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;"> Génistéine, une isoflavonol </div> <div style="text-align: center;"> Daidzéine, une isoflavone </div> </div>
Caroténoïdes	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> B- carotène </div> <div style="text-align: center;"> Lutéine </div> </div>

III.1.3. Les principales méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante de composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés. [125]

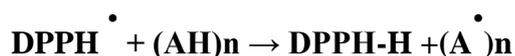
D'autres méthodes, moins pratiques, nécessitent la pulvérisation successive de deux solutions différentes, une méthode à phase inversée de la chromatographie (chromatographie sur couche mince) combinée avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH).

En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. La génération du radical libre est directement liée avec l'oxydation dans les nourritures et les systèmes biologiques. Parmi ces méthodes les plus utilisées, en particulier pour les tests chimiques *in vitro* (tableau n°17), en mettant en avant les mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de la méthode. Les tests antioxydants *in vitro* biologiques sont difficilement accessibles en raison de leur caractère commercial. Les résultats des activités antioxydantes sont généralement exprimés en fonction d'une molécule de référence possédant de forte propriété antioxydante.

III.1.3.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH :

Le Diphényle picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration, l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. [127]

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation suivante :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration (figure 17).

Tableau 17 : Quelques tests chimiques *in vitro*. [126]

Tests	DPPH	ABTS ou TEAC	FRAP	ORAC
Mécanismes réactionnels	Transfert d'électron majoritaire	Transfert d'électron et de proton	Transfert d'électron	Transfert de proton
Nature des molécules testées	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophile et lipophiles	Hydrophiles	Hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	IC ₅₀ et/ou en mg ou µmol équivalent d'une molécule de référence	IC ₅₀ et/ou en mg ou µmol équivalent d'une molécule de référence	en mg ou µmol équivalent Fe ²⁺	IC ₅₀ et/ou en mg ou µmol équivalent d'une molécule de référence
Avantages	- Très facile à mettre en œuvre, peu coûteux	- Très facile à mettre en œuvre, peu coûteux - Cinétique de réaction très rapide	- Très facile à mettre en œuvre - Peu coûteux	- Facile à mettre en œuvre, coûteux - Utilisation d'un générateur de radicaux (ROO•)
Inconvénients	- Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires. - Interférences possibles à 515 nm. - Forte dépendance au pH et au solvant. - Radical inexistant <i>in vivo</i>	- Produits de dégradation antioxydants - Radical inexistant <i>in vivo</i>	- PH utilisé non physiologique - Interférences possibles à 595 nm	- Mécanismes de génération des ROO• non physiologique - Interférences possibles des protéines

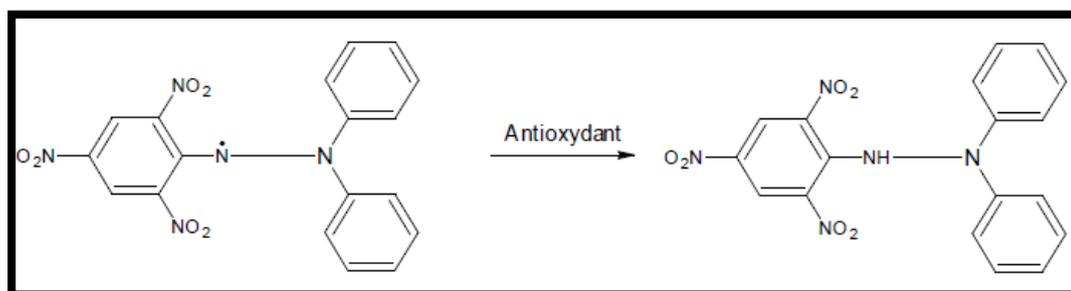


Figure 17 : Réduction du radical libre DPPH. [128]

III.1.3.2.Méthode de la réduction du fer (FRAP) :

La méthode est basée sur la réaction de réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{2+}), la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm. La variation d'absorbance est ainsi directement reliée au pouvoir réducteur total des antioxydants présents dans le milieu, le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols. [129]

III.1.3.3.Etude du pouvoir antioxydant du figuier de barbarie :

La survenue de certaines maladies dégénératives est favorisée en partie par des facteurs nutritionnels. Pendant longtemps l'accent a été exclusivement mis sur le rôle d'apports excessifs en certains nutriments, comme cause de ces pathologies. A la suite des données d'observation, notamment de ce qu'il est convenu d'appeler le régime méditerranéen, la notion d'éléments nutritionnels protecteurs est apparue. [130,131]

Parmi les aliments associés à cet effet protecteur, les fruits et légumes possèdent un rôle important. En effet, ils sont une source en plusieurs composés fonctionnels, qui agissent en interaction, et en synergie. [132]

Le figuier de barbarie longtemps marginalisé, présente une importance nutritionnelle, vue sa richesse en vitamine C, en pigments de type bétalaïnes, en composés phénoliques, sucres réducteurs et sels minéraux.

a. L'extrait de jus de fruit :

Une étude marocaine évalue l'activité anti-oxydante des jus de fruits de figuier de barbarie, in vitro, par le test au DPPH•. Le composé chimique fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. [133, 135]

Les résultats obtenus ont montré que les composés phénoliques, flavonoïdes et pigments de types bétalaïnes, possèdent des activités anti-radicalaires plus importantes que celle de la vitamine C. Les jus bruts présentent des activités plus élevées que celles des composés qui les constituent. Les jus issus de couleur pourpre possèdent des activités anti-oxydantes plus élevées que ceux issus des fruits de couleur jaune orange. [134]

b. L'huile de figuier de barbarie :

L'activité anti-oxydante d'huile de graines a été évaluée au moyen d'analyse de radical-balayage du DPPH et l'essai de blanchissement de β -carotène. Les deux méthodes ont démontré l'activité antioxydante notable d'huile de graines du figuier de barbarie, comparable à l'acide ascorbique et à l'hydroxytoluène butylé. L'activité anti-oxydante d'huile de graines s'est également avérée dépendante de la concentration. [136]

III.2. Activité antibactérienne :

L'activité antibiotique antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal à faible concentration, et qu'inhibe le développement d'une bactérie ou la tue.

La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien donné varie dont elle peut être très différente selon la souche d'appartenance. [142]

Les tests antibactériens et antifongiques ont pour but de rechercher l'activité biologique de chaque extrait de la plante étudiée vis-à-vis des différents microorganismes : bactéries et moisissures.

Les extraits actifs pourraient ainsi justifier l'usage en médecine traditionnelle des plantes dont ils sont extraits et permettraient, à partir du présent travail, d'ouvrir d'autres pistes à la recherche.

On cite souvent ces 3 méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne, car sont considérées comme fournissant des résultats reproductibles :

- Diffusion en disque,
- Dilution en bouillon,
- Dilution en gélose.

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme et antifongigramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. Le principe consiste à placer un disque de papier imprégné d'antibiotique sur la gélose inoculée au préalable. L'antibiotique s'humidifie puis diffuse dans le milieu en provoquant un gradient de concentration décroissant autour du disque.

Nous pouvons schématiser tout ce processus (figure18).

La diffusion en disque est facile à mettre en œuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement coûteux. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche du microorganisme sera qualifiée comme sensible, d'intermédiaire ou de résistante. [142]

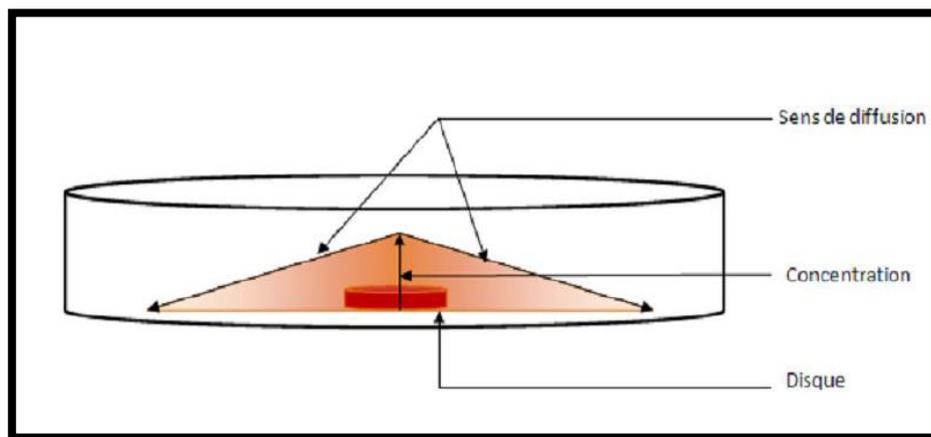


Figure 18 : Schématisation du principe de la mise en œuvre de l'antibiogramme.

Une étude a été évaluée sur les extraits méthanoliques des fruits d'*Opuntia stricta* en adoptant à la méthode de diffusion sur milieu gélosé, et en utilisant les disques stériles en cellulose révèle l'effet

inhibiteur sur deux souches bactériennes Gram-négatif (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*), et sur un seul champignon nommé *Candida albicans*. [143]

Un autre travail est effectué récemment au laboratoire de bactériologie de l'institut des vétérinaires université de Constantine, afin d'étudier le pouvoir antimicrobien des extraits de raquettes d'*Opuntia ficus-indica*, dont les souches bactériennes choisies sont: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Les résultats montrent que tous les extraits de raquettes d'*Opuntia* se sont avérés inactifs contre *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa* testées, car ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevé. En revanche la souche de *staphylococcus aureus* a manifesté une résistance relative vis-à-vis les extraits.

III.3. Activité anti-inflammatoire :

L'inflammation désigne l'ensemble des réactions déclenchées dans un organisme vivant, par une agression qui peut être d'origine immunitaire ou non (traumatique, infectieuse, virale, chimique, bactérienne...), elle se traduit ordinairement par quatre symptômes cardinaux : chaleur, douleur, rougeur, et elle peut être aiguë, subaiguë ou chronique. Cet ensemble de phénomènes réactionnels siégeant dans les tissus vascularisés (tissu conjonctif) a pour finalité de limiter et de réparer les effets de l'agression. [144]

Une action anti-inflammatoire de l'extrait d'éthanol du cactus *Opuntia ficus-indica* cultivé en Corée a été évaluée chez les souris. Après fractionnement de l'extrait de méthanol des tiges de cactus, un principe anti-inflammatoire actif a été isolé et identifié, le β -sitostérol, ce dernier bien que son activité semble être relativement plus faible comparée à celle de l'hydrocortisone, semble être le premier responsable de l'activité anti-inflammatoire du figuier de barbarie. [145]

III.4. Activité antiulcéreuse :

Les raquettes de l'*Opuntia ficus-indica* sont utilisées en médecine traditionnelle dans plusieurs pays dont l'Italie, pour leur activité cicatrisante. Récemment, plusieurs études ont montré que les raquettes riches en mucilage et en pectines, présentent une activité cytoprotective dans la prévention de l'ulcère gastrique. Les études ont été réalisées chez des rats rendus ulcéreux par l'éthanol. Les cladodes lyophilisés ont été administrés comme traitement préventif, un phénomène de cytoprotection a été remarqué.

En effet, les cellules épithéliales ont été rompues et une stimulation de la production du mucus a été observée. Les résultats de l'étude indiquent la formation d'une couche gélatineuse composée du mucus qui fournit un environnement favorable pour une restitution épithéliale rapide. Par ailleurs, chez les rats traités par les cladodes lyophilisés, les espaces glandulaires et l'épithélium superficiel montrent une sécrétion normale du mucus (figure 19 A), tandis que chez les rats traités par l'éthanol, les espaces interglandulaires sont élargis. (figure 19 B). [146]

Il est possible de supposer une participation du mucilage d'*Opuntia ficus-indica* dans les effets observés qui empêcherait la pénétration de l'agent nécrosant dans la muqueuse gastrique. Il formerait une couche

protectrice provenant des lésions nécrotiques profondes et l'exfoliation vaste de l'épithélium superficiel induite par l'éthanol.

Probablement, le mucilage principalement formé par l'arabinogalactane et l'acide galacturonique, peut agir en synergie avec les facteurs de défense de la muqueuse gastrique utilisé comme traitement curatif, les cladodes lyophilisés n'ont pas reconstitué les facteurs défensifs muqueux. [147]

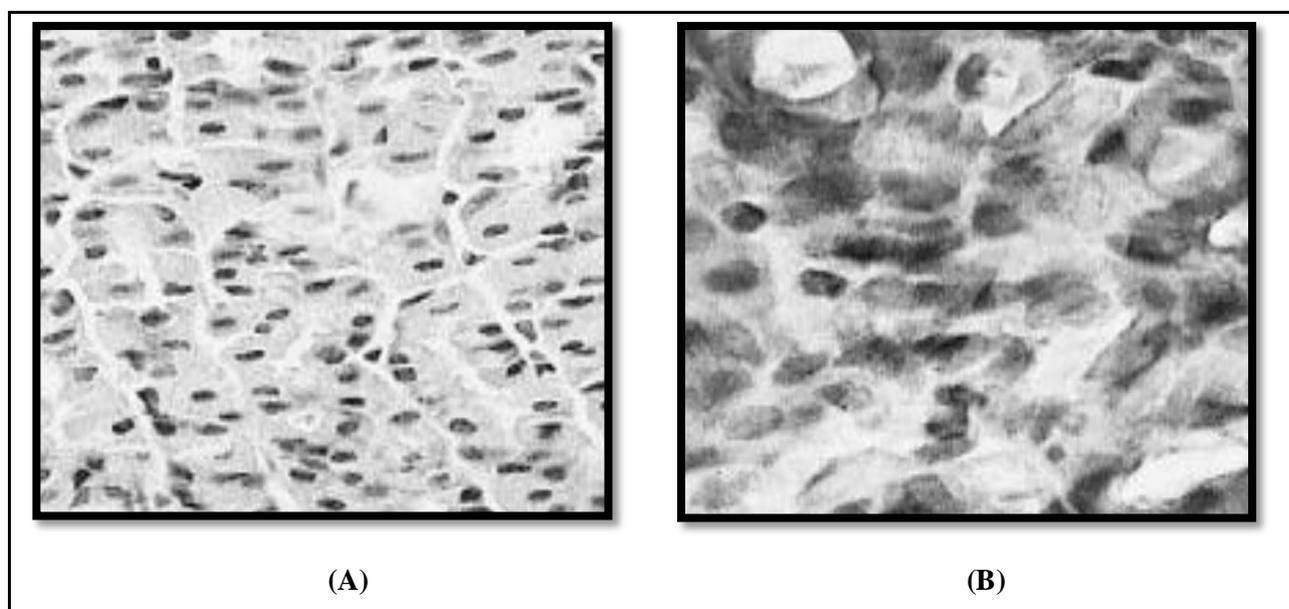


Figure 19 : Observations microscopiques de la muqueuse gastrique des rats :

(A) rats traités par les cladodes lyophilisés d'*Opuntia ficus-indica* (20 X),

(B) rats traités à l'éthanol (40X). [146]

III.5. Activité antiallergique :

Une étude coréenne très récente a été réalisée afin d'examiner les potentialités antiallergiques de la glycoprotéine (90 kDa) isolé d'*Opuntia ficus-indica*. Afin de savoir si les glycoprotéines d'*Opuntia* ont une capacité inhibitrice de l'allergie in vivo, l'évaluation des activités de facteurs concernant l'allergie comme l'histamine et la libération de l'hexosaminidase, lactate déshydrogénase (LDH) et interleukine 4 (IL-4) a été provoquée par le composé p-méthoxy-N-méthyl-phénéthylamine. Ce composé de synthèse (polyamine), d'intérêt expérimental provoquant la sécrétion des mastocytes. Les expérimentations in vivo ont été réalisées sur des souris permettant l'étude du mécanisme des réactions allergiques. L'étude a montré que la plupart des glycoprotéines produites par le figuier de barbarie ont un caractère de modulation pour l'inflammation, l'immunité et les facteurs concernant l'allergie. [148]

L'étude suppose que les glycoprotéines d'*Opuntia ficus-indica* contribuent à empêcher les cytokines de l'inflammation causée par le composé de synthèse (polyamine). Les résultats montrent que l'administration de la glycoprotéine extraite de l'*Opuntia ficus-indica* a diminué significativement l'activité des :

- Lactate déshydrogénase ;
- Histamine ;
- Interleukine 4 ;
- Hexosaminidase ;

L'étude suggère que la glycoprotéine extraite du figuier de barbarie possède un rôle efficace dans la prévention ou le traitement des maladies allergiques dépendantes de l'activation des cellules mastocytaires. [148]

III.6. Activité antigénotoxique :

D'après une étude réalisée en Tunisie, les cladodes du figuier de barbarie semblent avoir une activité antigénotoxique intéressante. La capacité des cladodes du figuier de barbarie dans la protection des souris contre la génotoxicité induite par la zéaralénone a été évaluée. [149]

La zéaralénone est la principale mycotoxine produite par *Fusarium graminearum*, champignon pathogène responsable de graves épidémies de fusariose de l'épi sur les céréales qui peuvent rendre les récoltes impropres à la consommation humaine. Stable, elle résiste à la plupart des traitements mis en œuvre au cours de la fabrication des aliments.

Diffusible, elle sera bien absorbée lors de son administration orale et pourra atteindre des récepteurs intracellulaires. Cette mycotoxine présente une très faible toxicité aiguë, elle agit surtout sur les fonctions de reproduction, après fixation compétitive sur les récepteurs intracellulaires des estrogènes. Cette fixation entraîne une augmentation de la synthèse d'ARN, de protéines et une prolifération cellulaire. [150]

L'administration simultanée de l'extrait de cladodes de cactus et de la zéaralénone a eu comme conséquence une prévention efficace contre la génotoxicité de la zéaralénone. [149]

III.7. Activité diurétique :

Depuis des décennies, la médecine traditionnelle utilise les fleurs du figuier de barbarie en infusion afin de soulager les « douleurs rénales ». Plusieurs chercheurs se sont intéressés à cet effet et plusieurs études ont été établies. Une étude Italienne, réalisée sur le figuier de barbarie de la région Sicilienne, porte sur les effets diurétiques des infusions des cladodes, des fruits et des fleurs de *Opuntia ficus-indica* chez le rat. La natriurèse, la kaliurèse et l'action sur l'hyperuricémie ont été étudiés. [151]

D'après les résultats l'étude propose que l'action diurétique observée puisse être liée à l'activation du mécanisme neuro humoral; ces effets semblent être à l'origine de l'influence que les électrolytes, présents avec des quantités considérables dans la plante exercent sur l'épithélium rénal. Particulièrement, *Opuntia ficus-indica* est très riche en potassium, d'autres cations monovalents et bivalents sont présent dans la plante également et pourraient avoir une activité diurétique synergétique avec le potassium. [152]

Dans l'étude présente, l'effet diurétique observé n'exclut pas la possibilité que le changement de la diurèse peut être une conséquence de la présence de composés polaires tels que les flavonoïdes, les

glycosides et l'acide ascorbique. L'analyse phytochimique préliminaire a révélé que ces composés sont les constituants principaux des différentes infusions de l'OFI. [153]

Ces composés naturels pourraient agir en synergie ou promouvoir individuellement la vasodilatation rénale initiale. L'autre possibilité pour expliquer l'effet diurétique observé pourrait être les changements indirects de quelques paramètres physiologiques avant l'étape de la filtration du sang. On ne peut donc pas expliquer l'effet anti urique de l'infusion des fruits uniquement par l'augmentation de la diurèse ou par une excrétion urinaire accrue d'urates. Probablement, il existerait une influence sur le métabolisme acide urique due à un changement de l'activité enzymatique. [151]

III.8. Activité hépato protectrice contre les pesticides :

Les cladodes du figuier de barbarie peuvent contrer les dégâts induits par un insecticide organophosphoré, le chlorpyrifos, au niveau du foie de souris. [154]

L'insecticide déclenche un stress oxydatif dans les cellules humaines et animales, les auteurs parlent d'un changement du système de défense antioxydatif et également de la peroxydation des lipides au niveau du foie de rat. Les dommages hépatiques causés par le chlorpyrifos ont été évalués par la pesée du foie de et la quantification de quelques paramètres biochimiques, comme les alanines amino transférase (ALAT), aspartate amino transférase (ASAT), la phosphatase alcalin, le lactate déshydrogénase (LDH), le cholestérol et l'albumine dans le sérum, par des dosages spectrophotométriques. Les extraits des cladodes cultivés en Tunisie et administrés aux souris en association avec le pesticide ont induit un rétablissement de tous ces paramètres.

L'extrait des tiges du figuier de barbarie en complément alimentaire a pu montrer un rôle avantageux dans la protection du foie contre les dommages causés par le stress oxydatif. Cette propriété revient principalement à la richesse de la plante en polyphénols et en flavonoïdes qui augmentent l'excrétion des métabolites résultant du métabolisme xénobiotique et peuvent ainsi protéger le foie. [155,156]

III.9. Action neuroprotectrice :

Récemment, des chercheurs coréens ont essayé d'identifier les principes actifs du figuier de barbarie et de caractériser leurs actions neuroprotectrices et antioxydantes en utilisant les cellules corticales de rat, dont l'extrait de méthanol des fruits des variétés d'*Opuntia ficus-indica* a révélé une importante efficacité dans la lutte contre les dommages neuronaux induits par les radicaux libres dans les cultures corticales de souris. Etant donné les rôles de l'effet oxydant et des radicaux libres dans la mort neuronale après ischémie et dans des désordres neurodégénératifs comprenant la maladie d'Alzheimer. Parmi les constituants isolés dans les fruits et les tiges des variétés d'*Opuntia ficus-indica*, les trois flavonoïdes (figure 20) :

- ✧ Quercetin,
- ✧ Dihydroquercetin, et
- ✧ Quercetin 3- méthyl éther, s'avèrent efficaces dans la protection des cellules corticales de rat.

Les cultures ont été préparées à partir des cortex cérébraux des embryons de rat. Les dommages neuronaux ont été causés par le caspase 3. Les caspases (aspartic-acid-specific cystein proteases) sont un groupe de protéases à cystéine qui jouent un rôle essentiel dans les phénomènes d'apoptose, de nécrose et d'inflammation. Parmi les trois flavonoïdes, le quercetin 3- méthyl éther est le plus efficace dans la lutte contre la neurotoxicité. Il est évident que les actions neuroprotectrices de l'*Opuntia ficus-indica* semblent actives pour la prévention et le traitement des désordres neurologiques provoqués par les agents oxydants. [157,158]

L'administration préventive de l'*Opuntia ficus-indica* est probablement utile dans le soulagement des dommages neuronaux causés suite à une ischémie globale. [159]

III.10. Activité immunomodulatrice :

Une étude américaine s'est intéressée aux potentialités thérapeutiques des polysaccharides d'une variété d'*Opuntia* très répandue à l'ouest des Etats-Unis et au sud du Canada il s'agit d'*Opuntia polyacantha*. L'analyse des effets des polysaccharides de cette variété sur les monocytes et les macrophages humains a démontré que ces derniers possèdent une activité immunomodulatrice puissante, incitant la production d'espèce d'oxygène réactive, le monoxyde d'azote, le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et l'interleukine 6. [160]

L'activité immunomodulatrice des polysaccharides d'*Opuntia polyacantha* semble être positivement corrélée avec leur poids moléculaire moyen, les fractions de poids moléculaires les plus hautes étant les plus actives.

Ceci peut être dû à une caractéristique commune des polysaccharides de certaines plantes qui module la fonction de macrophage, telle que l'activité biologique corrélée avec le poids moléculaire pour les polysaccharides isolés de *Juniperus scopolorum*, *Tanacetum vulgare* et *Artemisia tripartite*. [161-163]

En général, ces observations suggèrent que les polysaccharides extraits d'*Opuntia polyacantha* ou d'autres plantes puissent activer les macrophages via les récepteurs ou d'autres structures de surface, bien que la nature de ces cibles superficielles soit actuellement inconnue. Des études complémentaires sont nécessaires pour identifier la cible cellulaire de ces polysaccharides et établir la relation entre leur poids moléculaire et leur activité biologique.

L'étude conclue et supporte l'hypothèse qui suggère que les polysaccharides d'*Opuntia polyacantha* peuvent être utilisés comme un adjuvant immun thérapeutique. [160]

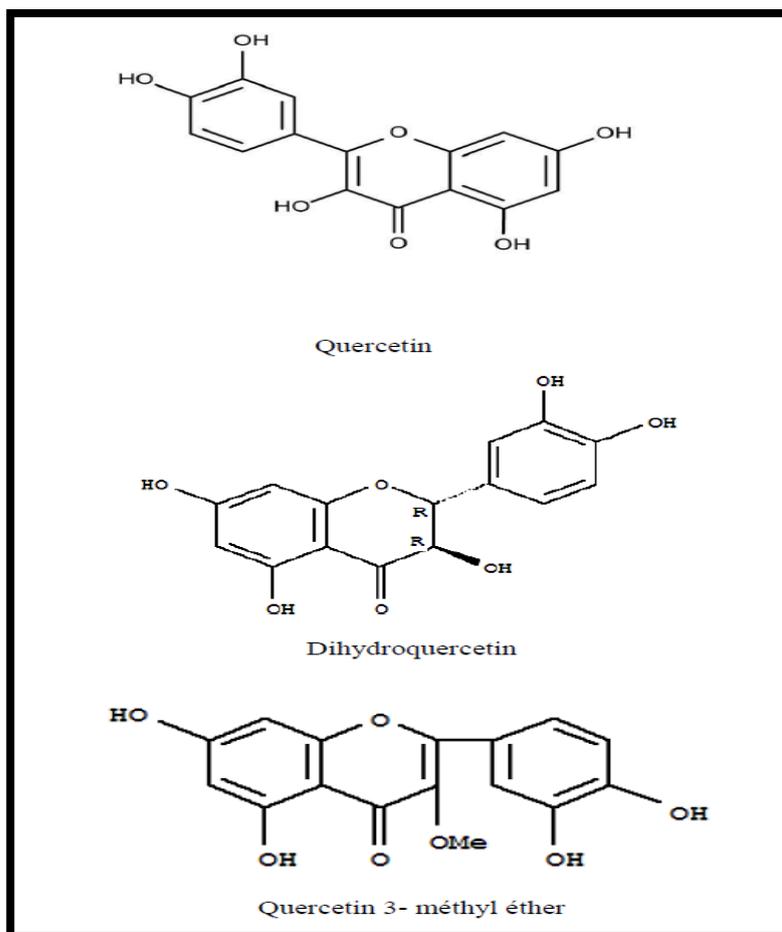


Figure 20 : Structure chimique du quercetin, dihydroquercetin et quercetin 3-méthyl éther.

III.11. Activité antalgique :

La douleur est souvent définie comme une expérience sensorielle désagréable. [144]

Du point de vue sémiologique est un symptôme, ou un signal salvateur le premier qui sert à attirer l'attention sur un phénomène pathologique, et qui peut être par son intensité et sa durée un véritable syndrome retentissant sur les grandes fonctions organiques, capable à lui seul d'aggraver l'état du malade.

Les analgésiques sont des substances susceptibles de diminuer ou de supprimer les sensations douloureuses.

- **Les analgésiques vrais** : type morphine, palfium, codéine qui ont une action sélective sur les centres de la douleur (action au niveau du cortex).
- **Les analgésiques antipyrétiques** : type aspirine, amidopyrine qui ont une activité sur la douleur et une activité fibrique par dépression du centre de la thermogénèse.

L'activité antalgique est exprimée en pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe traité. Le syndrome douloureux se caractérise par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso abdominale.

III.12. Action diététique :

D'après des recherches réalisées sur l'*Opuntia ficus-indica* cultivé en Tunisie, l'addition de l'huile de figuier de barbarie dans le régime alimentaire des rats a montré une diminution significative de la glycémie. Cependant, une augmentation de la concentration du glycogène a été notée dans le foie et dans le muscle.

Chez le groupe traité, le taux du cholestérol dans le sang, et la lipoprotéine de faible densité (LDL) est diminué, tandis que la lipoprotéine de haute densité (HDL) est restée presque inchangée pendant le traitement. Cette action est due à la richesse de l'huile de graines en phytostérols, particulièrement en β -sitostérol. [164]

Les études ont noté que les phytostérols induisent une diminution des niveaux du cholestérol de la lipoprotéine dans le plasma total mais le mode de leur action n'est pas entièrement compris. [165]

Heinemann et col ont montré que ces composés provoquent une diminution de la solubilité de cholestérol et de son absorption à travers la barrière intestinale. [166]

Spécifiquement, les phytostérols ont provoqué une diminution des niveaux de (LDL) chez les modèles animaux et chez l'homme. Il a été démontré que ces composés empêchent ou retardent le développement des lésions athérosclérotiques. [167]

D'autres composés, tels que les bêta-carotènes et la vitamine E, sont présents dans l'huile de graines de figue de barbarie (*Opuntia ficus-indica*), et pourraient empêcher le changement structural de lipoprotéines. [168]

Le rôle protecteur de ces vitamines est aujourd'hui divisé, quelques études indiquent un rôle protecteur de la vitamine E dans le développement de l'athérosclérose. [169-171]

Dans une étude ultérieure réalisée par les mêmes chercheurs, il a été démontré que l'enrichissement du régime avec les graines du figuier de barbarie a un effet hypolipidémique très prononcé par rapport au régime enrichi en huile du cactus.

L'administration des graines pourrait de manière significative diminuer les niveaux des triglycérides et celui des lipides totaux dans le foie. Il n'y a eu aucune variation significative de la composition en acides gras des extraits de foie et de sérum.

Plus d'études sont nécessaires pour expliquer les effets hypocholestérolémiques et hypolipidémiques potentiels des extraits de graine et de l'huile de l'*Opuntia ficus-indica* sur les pathologies hypercholestérolémiques. [172]

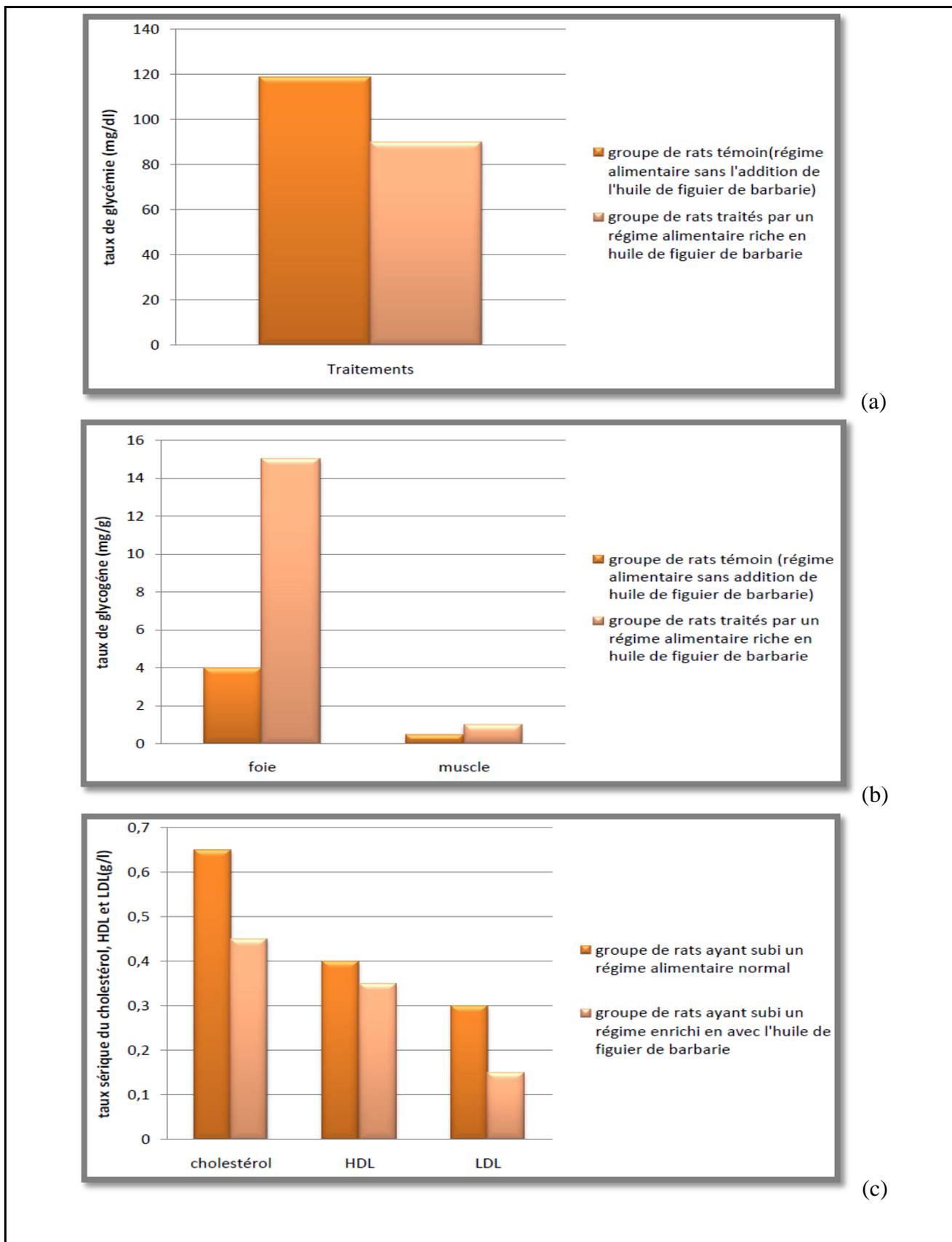


Figure 21 : Taux de la glycémie (a), du glycogène (b), et du cholestérol (HDL et LDL) (c) chez des rats témoins et pré-traités en l'huile d'*Opuntia ficus-indica* (25g /kg). [170]

III.13. Effet chondroprotecteur :

Les médicaments conventionnels dans la maladie articulaire sont souvent efficaces pour le soulagement des symptômes, mais ils peuvent également causer des effets secondaires significatifs sans ralentir la progression de la maladie. Les expérimentations viennent confirmer que les extraits des cladodes de l'*Opuntia ficus-indica* possèdent un effet protecteur dans le changement de cartilage lors de la dégénération des chondrocytes. Ils semblent avoir une action thérapeutique importante dans le traitement de l'ostéoarthrite, les symptômes inflammatoires et oxydants coexistent avec des symptômes chondrodégénérative.

Les composés actifs principaux dans les cladodes sont les polysaccharides qui ont accéléré le processus de réparation dans tout le tissu. Les glycoprotéines, composés aromatiques, en particulier les bêtacyanines, les betaxanthines, les polyphénols, les acides gras, les stérols, la β - carotène, en raison de leur activité antioxydante et les flavonoïdes polyphénoliques sont des métabolites qui possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques. Ils pourraient potentiellement avoir une action protectrice contre les maladies chroniques. Ces composés agissent sur les aspects de la maladie commune dégénérative, stress oxydatif, inflammation et chondrodégénération.

En conclusion, l'extrait lyophilisé des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* pourrait fournir une approche alternative à la maladie osteoarticulaire. [173]

III.14.Méthodes d'étude des psychotropes :

L'étude des psychotropes(les neuroleptiques) ou ce qu'on appelle l'action sédatrice se fait à l'aide d'essais pharmacologiques appropriés, nous allons voir comment caractériser chez l'animal l'action de drogues diminuant l'activité psychique et comment classer ces drogues en fonction de leur activité.

Les effets sédatifs des substances psycholeptiques sont mis en évidence chez les souris sur une batterie de quatre tests simples :

- Test de la tige tournante (Rota Rod).
- Test de la traction.
- Test de la cheminée.
- Test de la planche à trous.

III.15. Activité catatonigène :

La catalepsie ou immobilité tonique est une paralysie, un état physique transitoire, caractérisé par une rigidité des muscles du visage, du tronc, des membres qui restent figés dans leur attitude d'origine. [174]

Cette maladie se rencontre dans diverses affections, notamment l'hystérie et la schizophrénie. Parfois provoquée par des pathologies cérébrales comme une tumeur, elle entraîne au niveau des muscles un tonus anormal donnant une raideur. Il est inutile d'essayer de tenter une modification de cette rigidité : en effet, la résistance présentée par le malade est telle que l'adoption d'une nouvelle posture est impossible.

Les tests habituellement utilisés pour rechercher une activité catatonigène mettent en évidence la catalepsie, qui peut être caractérisé chez l'animal par l'association perte de l'initiative motrice. Une telle activité est caractéristique des médicaments neuroleptiques.

III.16. Activité hypnotique :

Un hypnotique est un médicament qui déclenche le sommeil. On parle de somnifères, dans le langage courant. Les hypnotiques font partie des psychotropes, c'est-à-dire des médicaments possédant une propriété dont l'action se fait spécifiquement sur l'activité cérébrale. Plus spécifiquement les hypnotiques appartiennent aux psycholeptiques, médicaments déprimant l'activité mentale, ou psychoplégiques, les différentes classes de ces médicaments (hypnogènes) sont parfois abusivement qualifié neuroleptiques, tranquillisants, antihistaminiques. Les hypnotiques possèdent des propriétés proches des anesthésiques généraux.

III.17. Activité antidiabétique :

Le diabète est traité par thérapie médicamenteuse, régime alimentaire et exercice physique ; cependant les médicaments présentent toujours plusieurs effets indésirables et différents contre-indications. Par ailleurs, un grand nombre de préparations botaniques a été utilisé pendant des siècles pour la gestion de la glycémie, particulièrement dans les pays sous-développés. Le figuier de barbarie est l'une des plantes les plus connues pour son effet antidiabétique. L'utilisation traditionnelle de l'*Opuntia ficus-indica* est venue des tribus mexicaines antiques. Récemment les chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'effet thérapeutique du figuier de barbarie.

- Une étude portant sur l'évaluation de l'activité hypoglycémiant d'un extrait épuré des cladodes d'*Opuntia fuliginosa* sur des rats rendus diabétiques par la Streptozocine, a montré que la glycémie et l'hémoglobine glycosylée ont été réduites aux valeurs normales par un traitement combiné d'insuline et d'extrait d'*Opuntia fuliginosa*. [175]

Quand l'insuline a été retirée du traitement combiné, l'extrait seul de la figue de barbarie a maintenu une euglycémie chez les rats diabétiques.

La réponse de la glycémie au glucose administré a également prouvé que les rats recevant le traitement de combinaison de l'insuline et de l'extrait des cladodes d'*Opuntia* pendant sept

semaines suivies de l'extrait seul étaient capables d'ajuster rapidement la glycémie au niveau de celle des rats non diabétiques (figure 22).

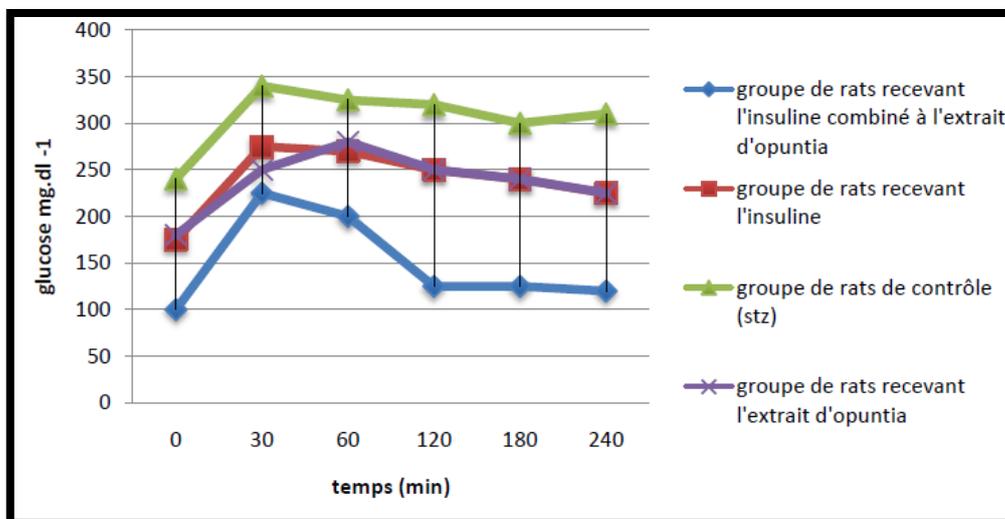


Figure 22 : Tolérance au glucose chez différents groupes des rats. [175]

- ⊙ D'autres chercheurs se sont intéressés à l'effet des polysaccharides extraits des cladodes de l'*Opuntia monacantha* sur le métabolisme des glucides chez des rats rendus diabétiques à la streptozotocine. Ils comparent son action avec le diméthylbiguanide, par détermination de la glycémie, du cholestérol total, du triglycéride total et du niveau du cholestérol HDL ; les polysaccharides extraits des cladodes ont montré des effets bénéfiques sur l'amélioration du taux des lipides et de la glycémie.
- ⊙ Le traitement quotidien à 100-300 mg/kg de pendant quatre semaines a non seulement apporté une diminution significative au niveau de glucose de sang des rats diabétiques, mais également augmenté le niveau du cholestérol HDL. Comparés aux groupes de rats traités par le diméthylbiguanide, le mécanisme d'action des extraits pourrait être analogue.

Le niveau d'insuline chez les rats diabétiques n'a pas été sensiblement affecté par le traitement de l'*Opuntia monacantha* et par le diméthylbiguanide d'où on peut conclure que les polysaccharides réduisent l'absorption de glucose intestinal, amplifient la sensibilité à l'insuline par augmentation de la captation et de l'utilisation périphérique du glucose et induit la diminution de la production hépatique du glucose par inhibition de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse. [176,178]

Une autre étude s'est intéressée à l'effet antidiabétique des polysaccharides de *Opuntia dillenii* sur des souris rendues diabétiques par la streptozotocine. L'administration orale des polysaccharides a diminué de manière significative :

- ✧ la prise de nourriture et d'eau ;
- ✧ la glycémie ;
- ✧ le taux du cholestérol total;
- ✧ le taux des triglycérides ;

Par contre, il y a eu une augmentation remarquable :

- ✧ du poids corporel;
- ✧ du niveau hépatique du glycogène ;
- ✧ du niveau des lipoprotéines de haute densité ;

Cependant, le taux d'insuline n'a pas augmenté de manière significative chez les souris avec du diabète STZ-induit. L'étude propose l'hypothèse que les polysaccharides d'*Opuntia dillenii* exerce son effet anti hyperglycémiant en protégeant le foie contre des dommages de peroxydation et en maintenant la fonction de tissu, et en améliorant de ce fait la sensibilité et la réponse des cellules de cible chez les souris diabétiques à l'insuline. [179]

⊙ Une étude coréenne plus récente a étudié l'effet de l'administration de l'extrait des tiges d'*Opuntia humifusa* sur les rats diabétiques (diabète type I). L'observation des effets n'a pas porté seulement sur la glycémie et la lipidémie mais aussi sur les cellules et les enzymes hépatiques et les tissus pancréatiques.

Les tiges d'*Opuntia humifusa* en poudre ont été suspendues en eau distillée et sont administrées par une sonde gastrique. Après 7 semaines de traitement, les niveaux de glycémie et de triglycérides sanguins des groupes traités par les extraits de cladodes étaient sensiblement plus bas en comparaison avec le groupe des rats diabétiques.

Les résultats globaux suggèrent que les tiges d'*Opuntia humifusa* possèdent une activité hypoglycémique et hypolipidémique potentielle chez les rats diabétiques. [180]



*Etude
Expérimentale*

Chapitre I :

MATERIELS ET METHODES

Chapitre I - Matériels et Méthodes

I.1. Matériel végétal :

A. La récolte du matériel végétal

- La cueillette des fruits qui s'est déroulée de la fin du mois juillet jusqu'au début mois septembre 2013 et 2014, de la région *Ain el rahma*, une localité située à une trentaine de km de la wilaya de Relizane, un nombre de 920 fruits qui correspond à 50 kg environ de fruits épluchés, et 3kg des pépins non broyés, les fruits étaient en maturité caractérisés par des couleurs nuancées du jaune-orange, les fruits ont été cueillis soigneusement avec des gants car ils sont très épineux.

En plus des fruits, la récolte des raquettes a été effectuée aussi dans la même région. Elles seront utilisées dans notre étude pour l'indentification de la plante.

B. L'identification de plante

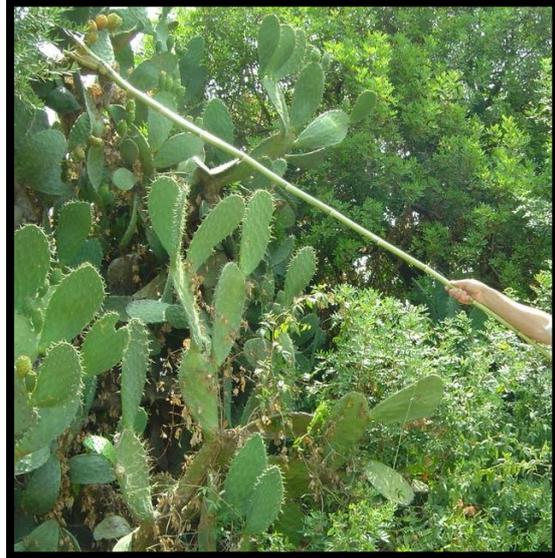
Une fois la récolte du matériel végétal est réalisée, l'identification de cette plante a été faite par le Professeur *Noury BENABADJI* du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

C. Méthode d'obtention les graines

Afin d'obtenir les graines d'*Opuntia ficus-indica*, nous avons épluché le fruit pour récupérer la pulpe, laquelle est parsemée de plusieurs petites graines qui sont empilées de façon assez régulière. La cohésion entre les graines est assurée par le mucilage et les fibres contenus dans la pulpe.

Nettoyer et bien Séparer les graines de la pulpe par l'utilisation de l'eau et des tamis à pores de plus en plus réduits en rinçant abondamment avec l'eau courante afin d'être surs d'éliminer tout le mucilage, puis les sécher soigneusement dans un endroit à l'ombre et bien aéré.

Les graines ainsi récupérées sont très dures, qui sont à la suite broyées en utilisant un mixeur, la poudre de graines ainsi obtenue est conservée dans un bocal hermétique à une température ambiante. Cette poudre fine sera ultérieurement utilisée pour la préparation des différents extraits.



(a)



(b)

(c)



(d) :

1

2

3

Figure 23 : (a). La cueillette des fruits d'OFI, (b). Raquettes à l'état frais, (c). Les fruits, (d). 1 et 2. Les graines après séchage, 3. La poudre des graines broyées.

I.1.1 Analyses physicochimiques :

I.1.2.1. Détermination du pourcentage d'humidité

La détermination du pourcentage d'humidité des graines a été réalisée par une méthode physique dite méthode par étuvage (**AOAC 950.01,1990**) environ 2g de graines sont séchés par étuvage à 103°C pendant 3heures (jusqu'à masse constante), puis refroidis pendant une heure au dessiccateur. [179]

La perte de masse observée à la suite de cet étuvage est alors assimilée à la masse d'eau contenue dans le produit. Le taux d'humidité correspond à la moyenne des résultats des tris essais, exprimée en g d'eau/100g de graines.

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = [(P2-P3) / (P2-P1)] * 100$$

P1 : masse en g du vase de tare,

P2 : masse en g du (vase de tare +échantillon) avant séchage,

P3 : masse en g du (vase de tare + échantillon) après séchage.

I.1.2.2. Détermination de la teneur en cendres totales

Elle consiste à un passage matériel végétal dans un four à moufle par chauffage électrique du à une température de 550°C, jusqu'à destruction totale de toute particule carbonneuse suivant le mode (Laurent, 1991). Ce travail a été réalisé à l'usine ALZINC à Ghazaouat, la matière organique est brulée complètement laissant uniquement les cendres, et la détermination de sa teneur se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la carbonisation. [181]

La teneur en matière organique est calculée par la formule suivante :

$$\text{MO \%} = \frac{M1 - M2}{PE} \times 100$$

MO% : Matière organique.

M1 : Poids de la capsule et de l'échantillon avant calcination.

M2 : Poids de la capsule et de l'échantillon après calcination.

PE : Prise d'essai.

10 essais ont été réalisés de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

La teneur en cendre est calculée comme suit :

$$\text{Cendres \%} = 100 - \text{MO \%}.$$

I.1.2.3. La teneur en minéraux

Nous avons effectué cette analyse à l'usine AIZINC à Ghazaouet. Pour identifier la teneur en minéraux de notre substance, 1g des cendres obtenues ont été portées à ébullition avec 10 mL de HCl (20%), après filtration dans une fiole de 100 mL, le filtrat est ajusté au trait de jauge avec l'eau distillé. La solution obtenue est ensuite soumise à une analyse des métaux par un spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme de type (AURORA AI.1200).

C'est une méthode d'analyse élémentaire qui s'applique à l'analyse des métaux lourds à l'état de traces. Les éléments absorbent les radiations dont la longueur d'onde correspond à celle émises lors du retour à l'état fondamental de l'atome. [182]

Le principe de la technique proposée par Walsh en 1995, cette méthode repose sur une mesure effectuée sur des éléments à l'état atomique libre. L'échantillon est porté à une température de plusieurs milliers de degrés (de 2000 à 3000 °C), pour que les éléments présents dans l'échantillon passent sous forme de gaz à l'état atomique. Les mesures sont faites à longueurs d'ondes fixes, choisies en fonction des éléments recherchés.

Le dispositif thermique est constitué par un brûleur alimenté par un mélange comburant, l'échantillon, qui doit être en solution aqueuse, est nébulisé avant d'être entraîné dans le mélange combustible.

Le parcours optique traverse la flamme qui crée sur quelques centimètres un petit nuage d'atomes de l'élément à analyser. L'absorption est liée à la concentration de l'élément par la relation de Beer-Lambert. [183]

I.1.2. Détermination de la teneur en matière grasse :

Dans le cadre de notre étude l'extraction de l'huile des graines d'*Opuntia ficus-indica* a été réalisé par deux méthodes différentes décrites comme suit:

a- Extraction par soxhlet

Pour cette technique, on a utilisé un solvant non polaire qui est le cyclohexane, dont son rôle sert à solubiliser la matière grasse, le mode opératoire consiste à prendre 68 g de la poudre des graines broyée avec un volume de 850 mL du solvant pendant 6 heures à 80°C. Le cyclohexane est évaporé par un évaporateur rotatif de type BÜCHI, l'huile récupérée (figure 24) doit être conservée dans un endroit ambré et à température basse.



Figure 24: L'huile d'*Opuntia*.

b- Extraction par CO₂ supercritique

Le CO₂ supercritique a été utilisé en tant que solvant d'extraction. Nous avons utilisé cette technique principalement pour prétraiter la matière végétale, et pour réaliser l'extraction des substances de haute valeur se trouvant dans l'huile de la plante. Les expériences ont été réalisées avec une installation pilote construit par la société Separex Chimie Fine, France (*série 3417 type SF 200*). L'installation comprend un extracteur de 200 mL et trois séparateurs (figure 25).

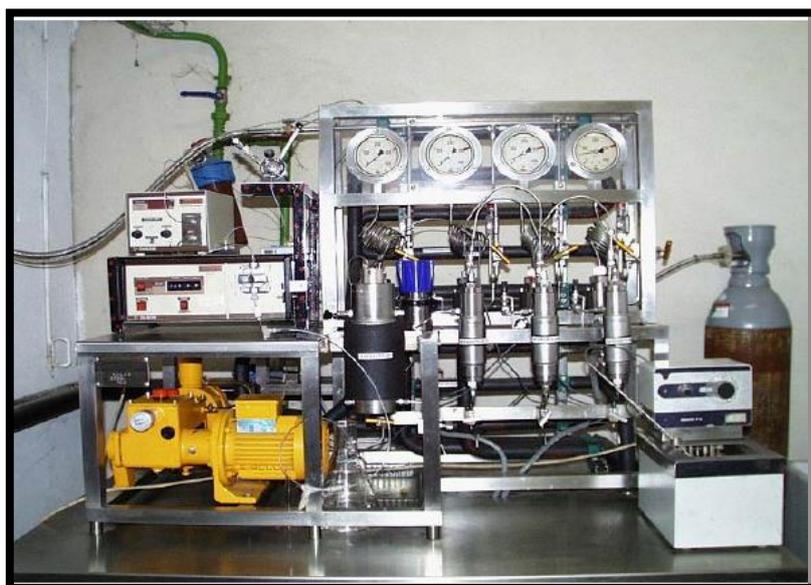


Figure 25 : L'installation d'extraction Separex.

⊙ Le schéma de l'installation est présenté dans la figure 26.

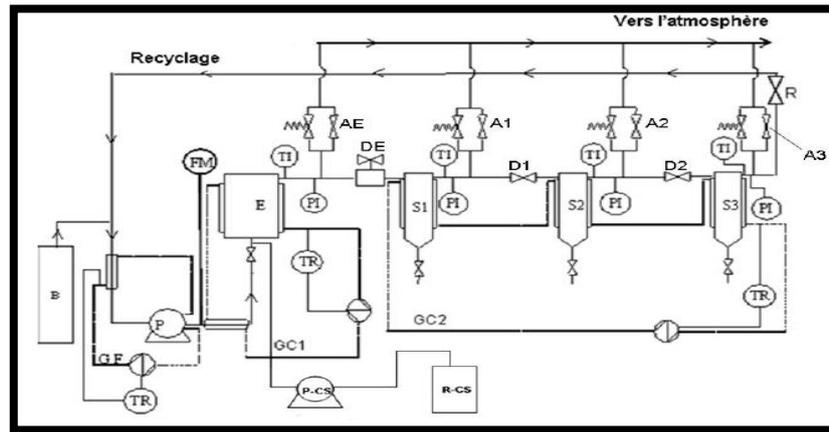


Figure 26 : Le schéma de l'installation d'extraction supercritique.

L'extracteur *E* et les trois séparateurs *S1*, *S2* et *S3* sont connectés en série. Les températures sont maintenues constantes par un système de contrôle de température qui comprend les groupes chauds *GC1* et *GC2* et des échangeurs de chaleur « doubles enveloppes » autour *E*, *S1*, *S2* et *S3*. Le système est alimenté grâce à du CO_2 liquide contenu dans une bouteille sous pression *B* (pression égale à la tension de vapeur à la température ambiante).

Le CO_2 est maintenu à l'état liquide avant et dans la pompe *P* à l'aide du groupe froid *GF* puis est porté au-delà de sa température critique grâce à un échangeur tubulaire avant d'être introduit dans l'extracteur *E* en passant par le débitmètre *FM*. Le débit maximal de CO_2 est 5 kg/h. Cette installation permet également l'utilisation de co-solvants. Ils sont introduits par la pompe *P-CS* à partir du réservoir du co-solvant *R-CS*, mélangés et dissous dans le CO_2 juste avant l'entrée de l'extracteur, dont dans notre travail on a utilisé comme un co-solvant l'éthanol, ainsi qu'on a réalisé 06 extraction en mode isotherme pendant une durée de 155 min, on changeant à chaque fois la pression, et la masse initiale de matière végétale introduite.

⊙ Calcul du rendement

Le rendement en huile pour les deux méthodes d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile obtenue et la masse de la matière végétale sèche.

$$R = \frac{m}{m_0} \times 100$$

m : masse de la matière végétale sèche.

m₀ : masse d'huile.

I.1.3. Détermination les différents indices

Pour le contrôle de la qualité de l'huile, on prescrit la détermination d'un certain nombre de constantes physiques : la densité relative et l'indice de réfraction on utilisant respectivement un pycnomètre et un réfractomètre, ainsi qu'une étude chimique qui sert à la détermination des indices suivants : de peroxyde, d'acidité, d'iode, de saponification et d'estérification selon les méthodes d'AOAC (1990). [185]

a- Indice d'acide

L'acidité est déterminée par la méthode titrimétrique en utilisant une solution d'hydroxyde de potassium éthanolique. [184]

☉ Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, nous avons pesé une masse environ 0,4 g d'huile et versé successivement 10 mL d'éthanol (96%), 10 mL de cyclohexane et 2 gouttes de phénolphthaléine (1g /100 mL d'éthanol). Nous avons agité avec un agitateur magnétique jusqu'à dissolution; ensuite nous avons réalisé un dosage avec une solution de potasse alcoolique à 0,01 M jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante.

➤ Expression des résultats :

$$I_A = \frac{(V.N).56.1}{m}$$

I_A : indice d'acide ;

N : normalité de la solution éthanolique de KOH ;

V : volume de la solution éthanolique de KOH exprimé en mL ;

m : masse de la prise d'essai d'huile en gramme ;

56.1 : masse molaire de KOH.

b- Indice de saponification

Il consiste à déterminer le nombre de milligrammes de potasse pour former un gramme d'ester. [185]

☉ Mode opératoire

Les corps gras étant insolubles dans l'eau, il faut les dissoudre dans un solvant organique approprié. Nous avons commencé par peser une masse connue et voisine de 4 g dans un bécher. Nous avons ajouté 100 mL de solvant constitué de 50 mL d'éthanol et 50 mL de cyclohexane et agité pour dissoudre le corps gras. Dans un bécher, nous avons introduit 10 mL de cette solution puis ajouté 25 mL de potasse alcoolique de concentration 0,5 mol/l et mis au bain marie bouillant pendant 45 à 60 minutes.

Nous avons ensuite ajouté 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine et dosé l'excès de potasse par l'acide chlorhydrique à une concentration de 0,5 mol/l en agitant jusqu'à la disparition de la coloration de la phénolphtaléine.

Nous avons effectué dans les mêmes conditions un essai à blanc.

➤ **Expression des résultats :**

Il est calculé par la relation suivante:

$$I_S = \frac{(V_0 - V_1) \cdot C_{HCl} \cdot 56.1}{m}$$

I_S : Indice de saponification ;

V_0 : volume de HCl en mL dans le test à blanc en mL ;

V_1 : volume de HCl en mL nécessaire pour neutraliser l'excès de la potasse ;

m : masse d'huile prise en gramme ;

C_{HCl} : Concentration de HCl ;

56.1: masse molaire de KOH.

c- Indice d'estérification :

C'est la quantité en mg de KOH nécessaire pour saponifier 1g d'huile dépourvue d'acide gras.

➤ **Expression des résultats :**

$$I_E = I_S - I_A$$

I_E : Indice d'estérification,

I_S : Indice de saponification,

I_A : Indice d'acide.

d- Indice d'iode :

Pour déterminer cet indice, nous avons préparé une solution d'huile dans le cyclohexane et le réactif de Wijs (ICl dans l'acide acétique), le protocole comme suit :

⊙ **Mode opératoire**

Dans un erlenmeyer, nous avons introduit une masse d'huile environ 0,15 g, puis ajouté dans l'ordre : 25 mL de cyclohexane, 10 mL de réactif de **WIJS** 0,1 M (ICl dans l'acide acétique). Le mélange obtenu est bouché, agité et placé à l'obscurité pendant 45 minutes. Nous avons ajouté 100 mL d'eau distillée et 15 mL d'iodure de potassium et agité à l'obscurité pendant quelques minutes.

Ensuite, nous avons titré avec le thiosulfate de sodium (0,1 M) jusqu'à ce que la coloration devienne pâle, ajouté 1 mL d'empois d'amidon et continué le dosage jusqu'à ce que la coloration bleue disparaisse. Nous avons effectué dans les mêmes conditions un essai à blanc.

➤ **Expression des résultats**

$$I_I = \frac{C_{SO_4} \cdot (V_0 V_1) \cdot M_{I_2} \cdot 100}{2m}$$

V_0 : volume de thiosulfate de sodium dans le test à blanc exprimé en mL;

V : volume de thiosulfate de sodium nécessaire pour la neutralisation de l'excès d'iode ;

C : concentration molaire de la solution de thiosulfate de sodium ;

m : masse prise d'essai d'huile en gramme ;

M : masse molaire d' I_2 .

e- Indice de peroxyde :

Pour déterminer cet indice, nous avons traité la solution de l'huile par l'iodure de potassium ; l'iode libéré est titré ensuite avec le thiosulfate de sodium.

⊙ **Mode opératoire**

Dans un erlenmeyer de 100 mL, nous avons fait passer de l'azote pur et sec pendant environ 10 minutes et fermé l'erlenmeyer immédiatement. Ensuite, nous avons pesé exactement 2 g du corps gras, ajouté 25 mL d'un mélange de 10 mL de chloroforme et de 15 mL d'acide acétique privé d'oxygène; et dissous le tout en agitant.

Après dissolution, nous avons ajouté 1 mL d'iodure de potassium, agité et abandonné au placard 5 minutes puis ajouté rapidement environ 75 mL d'eau pour arrêter la réaction.

Nous avons ajouté l'indicateur et titré immédiatement avec le thiosulfate de sodium jusqu'à disparition de la coloration violette. Nous avons aussi effectué un essai à blanc.

➤ **Expression des résultats**

$$I_p = 5 \times (V_E - V_b)$$

V_E : volume de l'échantillon,

V_b : volume à blanc.

f- Indice de réfraction :

L'indice de réfraction est particulièrement utile car il nous renseigne sur l'état de dégradation d'une huile. En effet, la présence d'acides gras libres abaisse fortement l'indice de réfraction.

La mesure de l'indice de réfraction a été faite à une température de 22,7 °C avec un réfractomètre par lecture directe. [184]

⊙ **Mode opératoire :**

Nous avons dirigé le réfractomètre (figure 31) vers la lumière, ouvert et orienté convenablement le volet d'éclairage de l'échelle des indices. Nous avons réglé le tirage des oculaires pour avoir une vision nette du réticule et de l'échelle de lecture, relevé le prisme mobile d'éclairage et nettoyé soigneusement les deux faces.

Nous avons déposé 2 à 3 gouttes de liquide à l'aide d'une pipette sur la face horizontale du prisme de référence et rabattre doucement le prisme mobile. En regardant dans l'oculaire, nous avons agi sur le bouton moleté de droite de façon à amener dans le champ de vision la limite de séparation des deux zones (claire et obscure).

Nous avons agi sur le bouton moleté de gauche pour rendre nette cette ligne de séparation et ajusté cette ligne à l'intersection du réticule par action sur le bouton moleté de droite. En regardant dans l'oculaire, nous avons lu la valeur de l'indice de réfraction n_D^t °C

➤ **Expression des résultats :**

L'indice de réfraction est exprimé par la formule suivante :

$$n_d^{20} = n_d^t + 0.00035(t-20)$$

n_d^t : valeur de lecture à la température à laquelle a été effectuée la détermination.

n_d^{20} : indice de réfraction à la température 20°C.

t : température à laquelle a été effectuée la détermination.

g- Indice de densité :

C'est une grandeur physique qui caractérise les corps liquides par unité de volume. Elle permet le contrôle de la pureté de l'huile extraite.

⊙ **Mode opératoire :**

Selon les méthodes (AFNOR, 1978), après un nettoyage du pycnomètre par l'éthanol ainsi que l'acétone, on prend leur poids vide une masse qui correspond : m_0

2g d'eau distillée ont été mis dans le pycnomètre laissés 30 minutes, puis cette masse a été pesée à 20°C, ce poids représente : m_1

2g d'huile ont été pesés et laissés 30 minutes dans un bain Marie à 20°C. Le pycnomètre rempli d'huile représente : m_2 . [186]

➤ **Expression des résultats :**

La densité relative d_{20} est calculée par la formule suivante :

$$d_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

I.1.4. Préparation des extraits

I.1.4.1. Extraction par macération à l'eau

Suivant le mode opératoire suivant :

50g de poudre ont été introduits dans un erlenmeyer et macérés dans 500 mL d'eau distillée, sous agitation mécanique pendant 24 heures à température ambiante (figure 27). Après décantation du mélange, l'extrait hydrique est récupéré par filtration sur papier filtre. [187]

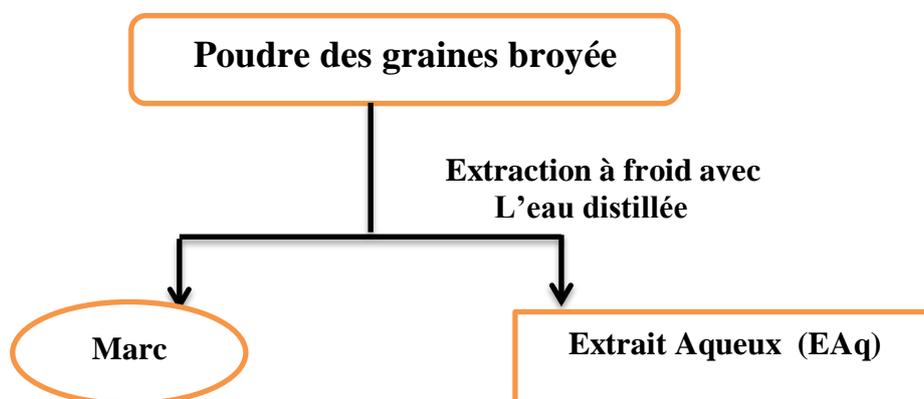


Figure 27 : Schéma d'extraction à froid par l'eau distillé.

I.1.4.2. Extraction par les solvants organiques à polarité croissante

L'extraction est effectuée par épuisement successive du matériel végétal, en utilisant trois solvants à polarité croissante : éther de pétrole (EP), dichlorométhane (DCM) et méthanol (MeOH), la quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale dont nous disposons. [188]

Dans notre cas, 60mL de solvant pour 6 g de drogue, l'extraction est effectuée sous agitation continue et à température ambiante durant 24 heures.

Chaque étape d'extraction est refaite trois fois, et les extraits organiques (EEP, EDCM, EMeOH) ont été concentrés sous vide par un évaporateur rotatif aux températures 30 C°, 35C° et 40C° respectivement. Après la concentration, ces extraits ont été séchés à l'air libre et stockés à - 4°C, à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation (figure 28).

I.1.4.3. Extraction par macération

Il s'agit des extractions à froid sous agitation mécanique, plus précisément des extractions phénoliques de type solide-liquide à partir de la poudre dégraissée de graine.

a- Le méthanol et l'acétone

Selon le même mode opératoire suivant avec quelques modifications : une prise d'essai de 2,5g de la poudre des graines avec un volume de 25mL du solvant sous agitation magnétique pendant 24 heures. Après filtration et évaporation sous vide, les extraits ont été stockés à 4°C durant 24 h. [189]

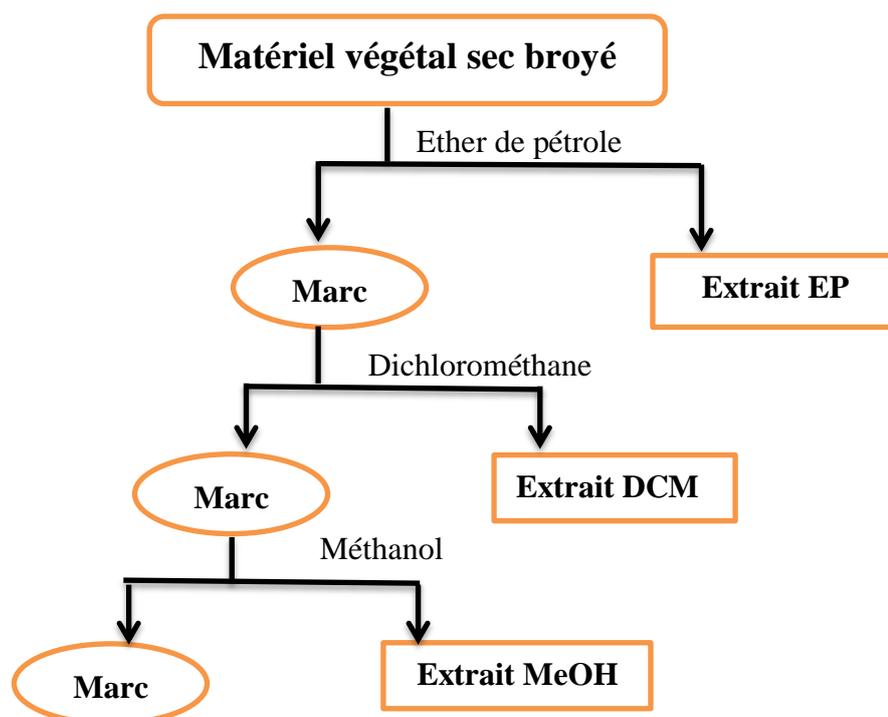


Figure 28 : Schéma d'extraction par épuisement successif du matériel végétal.

b- L'éthanol

En préparant deux extraits éthanoliques différents au niveau du pourcentage du solvant, dont on prend en premier cas un volume total du solvant (100%), tandis que pour le deuxième extrait on prend seulement la moitié du volume (50%) en complétant avec de l'eau distillée. [190]

⊙ *Détermination du rendement*

Le rendement en extraits secs est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après l'élimination du solvant par un évaporateur rotatif), et le poids du ballon vide.

I.1.5. Analyse des acides gras

L'analyse est réalisée après dérivation des acides gras en esters méthyliques correspondants. En effet, la transestérification par le méthanol permet d'obtenir ces dérivés méthyliques après saponification des glycérides du corps gras en présence de l'hydroxyde de potassium, puis estérification des acides gras libérés, par le méthanol en présence le trifluorure de bore, dont la réaction est schématisée. Le protocole de cette technique opérée selon la norme **AFNOR NF T 60-233**, et les conditions d'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG), ainsi que pour la chromatographie couplée à la masse sont les suivants :

A- Analyse par CPG

Les analyses ont été réalisées sur un chromatographe de type **GC 17-A (SHIMADZU)**, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (**FID**), d'un injecteur diviseur et d'une colonne capillaire TR-CN100 (30m ×0.25mm, épaisseur du film 0.20µm) dont sa structure est : **Poly (bicyanopropyl) siloxane** (figure 30).

Le gaz vecteur est l'azote (N₂), sa vitesse correspond à 34cm/sec, son débit dans la colonne 1,5 mL/min, tandis que le débit total du gaz vecteur 25mL/min, la température de l'injecteur 250°C, et celle du détecteur 280°C. Le programme de température du four consiste en une isotherme à 40°C (4min) suivie d'une rampe de température à 4°C/min jusqu'à 210°C pendant 15 min.

L'injection se fait par mode split avec un rapport de (14 :1), le débit du gaz dans le split est 20mL/min, le débit de la purge 3mL/min, la fuite du septum est 2mL/min, la pression égale 600 kPa, et le volume injecté 1 µl.

B- Analyse par GC/SM

Les analyses ont été réalisées par deux chromatographes différents, le premier de notre laboratoire il s'agit d'un chromatographe de type **Perkin Elmer type auto système XL** couplée au spectromètre de masse (**Turbomasse**), muni d'un détecteur de type quadripôle, et doté d'une colonne capillaire en silice fondue Rtx.-Wax, dont sa structure est (**5% Diphényle**) **Diméthyle polysiloxane** (figure 30).

Les conditions opératoires sont :

⊙ *Pour la GC*

Gaz vecteur : Hélium

Type de colonne : Colonne capillaire Elit-5

Longueur : 30m

Diamètre intérieur : 0,25mm

Épaisseur du film : 0,25 μ m

Température de l'injecteur : 250°C

Split total : 5mL/min

Vitesse de chauffe : 4°C/min

Débit du gaz vecteur : 1mL/min

Volume injecté : 1 μ l.

⊙ *Pour la MS*

Ligne de transfert : 270°C

Température de la source : 255°C

Purge du solvant (Arrêt d'analyse du solvant) : 4,1min

Multiplicateur : 310 v

Courant du filament : 0,08 A

L'intervalle de balayage : [45-450] uma

L'impact électronique (EI 70 eV) a été utilisé pour exécuter la fragmentation de masse.

Les composants ont été identifiés et quantifiés par leurs temps de rétention et les spectres de masse par rapport aux données recueillies à partir authentique analyse des normes commerciales dans les mêmes conditions expérimentales (Supelco 37-FAME Mix47885-U).

Le second chromatographe celui du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) :

Les analyses ont été réalisées grâce à un chromatographe Agilent Technologies 6890, doté d'un injecteur automatique et d'une colonne capillaire HP-WAX Polaire (30 m x 0.35 mm; épaisseur du film 0.25 μ m), couplée à un spectromètre de masse de type 5973 MSD, l'impact électronique à 70 eV, le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1.5 mL/min, la ligne de transfert 260°C, la température de la source 200°C, et la programmation est comme suit : 40°C pendant 4 min, palier 10 °C/min jusqu'à 140°C, isotherme pendant 1 min; palier 2 °C/min jusqu'à 240°C, isotherme pendant 10 min, l'injection se fait en mode split, le volume injecté est de 1 μ l.

Les résultats sont comparés à la bibliothèque des spectres de masse NIST 2002.

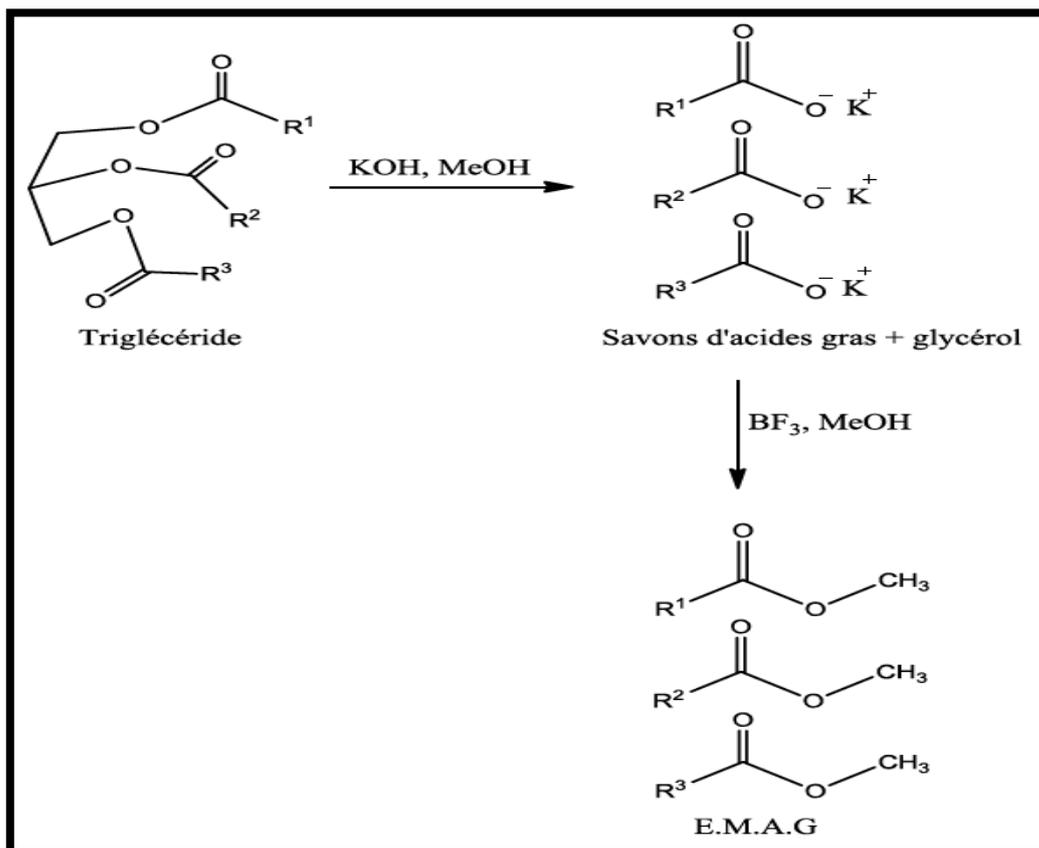


Figure 29: Réaction de transformation en esters méthyliques (EMAG = FAME).

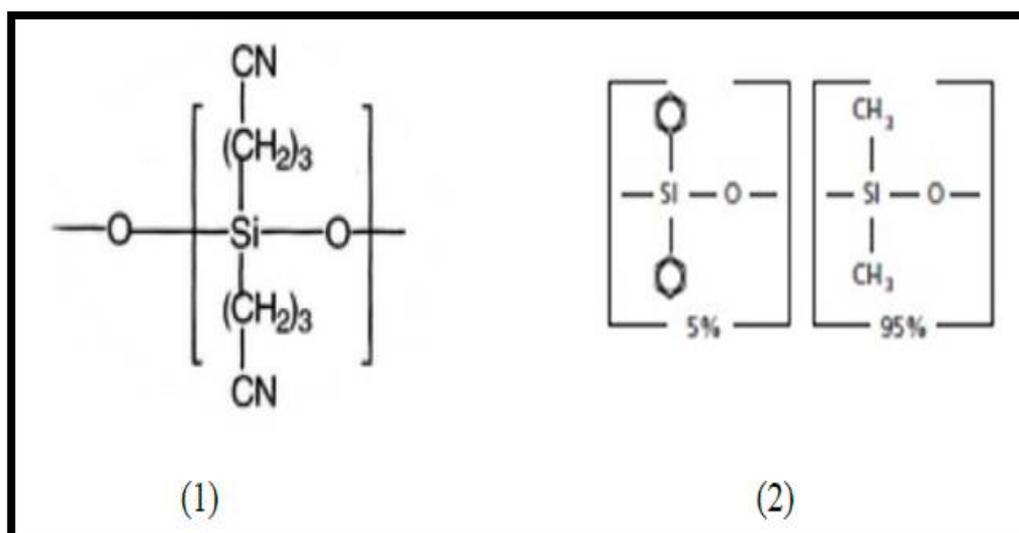


Figure 30 : Colonnes capillaires utilisées en GC /FID. (1).TR-CN100, Et en GC-MS. (2). Elite-5.

I.2. Dosage spectrophotométrique

I.2.1. Dosage des tocophérols totaux

⊙ Procédure expérimentale

Une droite d'étalon tracée à partir d' α -tocophérol commercial (vitamine E), permet de relier la densité optique et la concentration en tocophérols. A partir d'une solution commerciale de la vitamine E, nous avons préparé dans l'hexane des solutions ayant des concentrations bien déterminées, 2 mL de chaque solution filles plus 1mL de réactif phénantroline et 0.5mL FeCl₃ (solutions éthanoliques). Après 3min on mesure l'absorbance à 510 nm.

Les échantillons d'huiles sont traités de la même manière, la teneur en tocophérols est exprimée en mg/100g d'huile équivalent de la vitamine E,

I.2.2. Dosage des stérols totaux

⊙ Procédure expérimentale

A partir des solutions chloroformiques de cholestérol à différentes concentrations, nous avons tracé une courbe d'étalonnage du cholestérol. On prend 4mL de chaque solution et on ajoute 2 mL du réactif de Liebermann puis on laisse la coloration se développe et se stabilise pendant 25 minutes à l'obscurité. En mesurant l'absorbance à 550 nm de chaque solution, nous obtenons la courbe liant la densité optique en fonction de la concentration.

Nous avons effectué le dosage sur l'huile brute. Les échantillons d'huiles sont traités de la même manière, la teneur en stérols est exprimée en mg/g d'huile équivalente du cholestérol.

I.2.3. Dosage des caroténoïdes totaux

⊙ Procédure expérimentale

La teneur en caroténoïdes totaux est déterminée selon la méthode suivante avec quelques modifications, 1 g d'huile est traité avec 25 mL du mélange acétone/éthanol (1 :1, v/v), après préparation des dilutions, l'absorbance est lue à 450 nm. La concentration en caroténoïdes est estimée en mg/100g du corps gras en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la β - carotène. [191]

I.2.4. Dosage des polyphénols totaux

⊙ Procédure expérimentale

Nous mettons 0,5 mL de chaque extrait dans des tubes à essais, ajoutons 1,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué dans H₂O distillée, agitons vigoureusement puis laissons pendant 5 minutes d'incubation avant d'ajouter 1,5 mL de carbonate de sodium à 6 %. Après 1 heure d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, nous avons lu les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 760 nm, toutes les mesures sont répétées 3 fois. [142]

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à des différentes concentrations, en suivant les mêmes étapes du dosage. Le blanc est représenté en remplaçant le volume d'acide gallique par l'eau distillée additionné du Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium.

⊙ *Expression des résultats*

La teneur en polyphénols totaux est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/100 g MS). La formule suivante permet le calcul de la teneur en phénols totaux :

$$T = \frac{C \times V}{m}$$

T : Teneur en polyphénols totaux,

C : Concentration d'extrait équivalente à l'acide gallique (mg/mL),

V : Volume de l'extrait (mL), **m** : Masse de la matière sèche (g).

I.2.5. Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans des extraits est réalisable en utilisant la méthode de Bahorun. [112]

⊙ *Procédure expérimentale*

La méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits ; 1mL de chaque extrait (avec dilution convenable) est ajouté à 1mL d'une solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Après 10mn de réaction, l'absorbance est mesurée à 430nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine à différentes concentrations. Le blanc est représenté par l'eau distillée, et toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

⊙ *Expression des résultats :*

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent de la quercétine par 100 gramme de matière sèche selon l'équation suivante :

$$T = \frac{C \times V}{m}$$

T : Teneur en flavonoïdes,

C : Concentration d'extrait équivalente en quercétine (mg/mL),

V : Volume de l'extrait (mL), **m** : Masse de la matière sèche (g).

I.2.6. Activités antioxydantes

a. Réduction du fer: FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (figure 38).

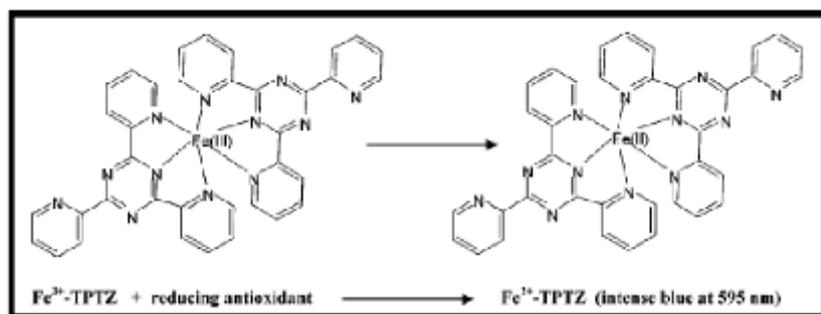


Figure 38 : Schéma sur la réaction de test FRAP. [192]

Le protocole expérimental utilisé est comme suit où : 0.5 mL de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 1,25 mL d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 1.25 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 1,25 mL d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis dans d'autres tubes 1.25mL du mélange sont ajoutés à 1.25 mL d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3, 6H_2O$) à 0.1% a été pris. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. [129]

⊙ Expression des résultats

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différentes fractions de la plante étudiée. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

b. Evaluation de l'activité antioxydante par diphenyl-picryl-hydrazyl (DPPH)

C'est une méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable, violet en solution et présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm. Le protocole appliqué en routine en repose sur la disparition de ce maximum lorsque le DPPH est réduit par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration du violet au jaune. Un volume de 1mL de chaque extrait plus un volume égal d'une solution méthanolique de DPPH (0,1mM) est incubé (30min). Les absorbances à 517 nm ont été enregistrées, et l'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{d'activité antiradicalaire} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard (contrôle positif) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons, et pour chaque concentration le test est répété 3fois. Les résultats ont été exprimés par la moyenne \pm écart type.

Dans ce test on définit deux paramètres :

- La concentration effective à 50%, $EC_{50} = IC_{50}/\text{mg de DPPH/mL}$.
- Le pouvoir antiradicalaire, $APR = 1/EC_{50}$.

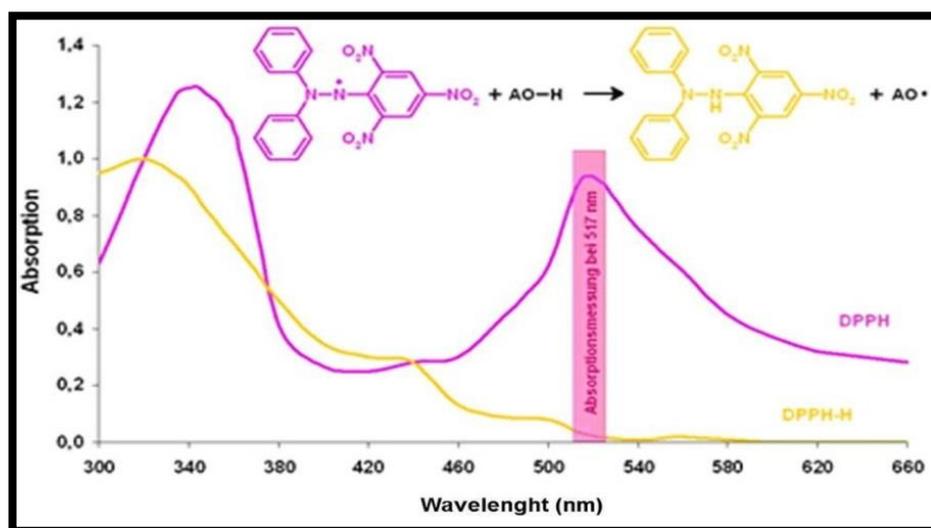


Figure 39: Graphique montrant le changement de la couleur du DPPH du violet au jaune.

I.3. Analyse chromatographique par HPLC

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est une méthode séparative d'adsorption ou de partage où une phase mobile constituée par un mélange de solvants, tamponnée ou non, de force ionique variable, traverse une colonne contenant une phase stationnaire constituée de la réunion de micro-particules sphériques dont le diamètre est compris entre 2 et 5 micromètres ou de matériaux monolithiques poreux. Elle correspond la technique d'analyse et de caractérisation des extraits en composés phénoliques la plus utilisée, car elle présente une haute résolution, une reproductibilité élevée, et une durée d'analyse relativement courte. [193, 194]

Elle peut être employée pour la séparation, la détermination quantitative, et l'identification des polyphénols, utilisée généralement en phase inverse, et elle comporterait trois points essentiels : la colonne, solvant d'éluion et le détecteur. [195]

Dans la séparation d'un mélange, cette chromatographie fait intervenir deux variables, la phase stationnaire (la colonne), et la phase mobile (le ou les solvants). Les particules de la colonne et les solvants employés vont permettre une séparation qui pourra être optimisée en faisant varier surtout la composition de notre phase mobile. Cette dernière est poussée avec pression (pompe) sur la colonne, entraînant le mélange à séparer, et c'est cette pression qui permet le passage du solvant à travers de très petites particules à une vitesse raisonnable, ce qui permet d'obtenir une haute résolution. [195]

L'analyse HPLC a été effectuée sur un système *Perkin Elmar Flexar* équipé d'un système de distribution de pompe binaire, d'un dégazeur interne, d'un détecteur de matrice de diodes (PDA) et d'une colonne *Eclipse ODS Hypersil C18* (15 cm × 4,6 µm). La phase mobile consistait en un solvant A (eau / acide formique) (0,1%), et solvant B (acétonitrile / acide formique) (0,1%). Le système d'éluion en gradient était: 95% A (5 min), 90% A (10 min), 50% A (35 min), 95% A (10 min) et 95% A (5 min). Le débit est de 1 mL / min, et le volume d'injection est égale à 20µl. Un logiciel informatique permettant de visualiser les signaux enregistrés par le détecteur.

Les mesures ont été réalisées selon la méthode suivante avec quelques modifications à la longueur d'onde 280 nm. [197]

Les éluant ont été dégazés ; les extraits et les standards ont été filtrés sur membrane millipore pour éviter d'endommager la colonne et limiter les interférences dues aux impuretés.

L'identification des pics des composés phénoliques s'est effectuée en fonction de leur temps de rétention et de leur comparaison avec les normes, les solutions des standards sont préparées en dissolvant 10mg dans 1ml de méthanol.

I.4. Activité antibactérienne

I.4.1.Méthode de diffusion (Antibiogramme)

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant les disques stériles en cellulose appelée antibiogramme. [143]

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

Ce travail a été effectué au Laboratoire des Produits Naturels, département de biologie, université Aboubek Belkaid Tlemcen.

Les souches bactériennes choisies sont: *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Klebsilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Escherichia coli*, ainsi *Candida albicans* comme un seul type de levure de référence (tableau n° 18).

Tableau 18: Souches bactériennes

Etat frais	Souches
Bacille	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Klebsilla pneumoniae</i> ATCC 700603
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876
Cocci	<i>Staphylococcus aureus</i> A TCC 6538
	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341
Levure	<i>Candida albicans</i> ATCC 26790

ATCC : American type culture collection.

I.4.2. Confirmation des souches

a- Test de la catalase

Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), celui-ci est très toxique et certaines bactérie sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Ce test a pour but de différencier les lactocoque ou leuconostocs (Cat -) des entérocoques (Cat +). Sur une lame propre, une goutte d'eau oxygénée est déposée, à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée puis l'inoculum bactérien est ajouté.

L'Observation est immédiate, s'il y'a apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : le test est catalase (+), si il n'y a pas de bulles : catalase (-).

b- Coloration de Gram

Sur un frottis étalé, séché fixé, on verse une solution de violet de gentiane et on laisse agir pendant 1 min ;

- On rejette le violet de gentiane en l'entraînant avec le lugol et on le laisse agir pendant 1 min puis on le rince avec l'eau distillée ;

- On rince le frottis à l'alcool pendant 45 secondes ;

- On rince avec l'eau distillée ;

- On recouvre la lame avec la solution de la fushine et on laisse agir pendant 30 secondes. Ensuite on rince avec l'eau distillée ;

- Entre deux feuilles de papier filtre fin, on sèche la lame colorée délicatement. On dépose ensuite une goutte d'huile à immersion et on observe au grossissement x 100.

c- Observation des bactéries

Les bactéries à Gram positif colorées apparaissent en violet foncé et celle à Gram négative colorées en rose.

I.4.3. Conservation des souches

Elle a été réalisée par ensemencement des souches isolées sur gélose nutritive inclinée en tubes à essais, les cultures pures sont conservées à + 4°C à l'obscurité.

I.4.4. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes ;
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes ;
- La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien de la levure et l'étude de sa sensibilité aux extraits.

I.4.5. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

I.4.6. Préparation des dilutions d'extraits d'*Opuntia*.

Les extraits d'OFI ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour les extraits organiques et dans l'eau distillée pour l'extrait aqueux afin de préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 1g/mL.

I.4.7. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes mises en culture dans le bouillant nutritif et incubées à 37°C pendant 48h, leur opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

I.4.8. Ensemencement et dépôt des disques

1ml de chaque suspension de culture bactérienne est étalé à la surface du milieu gélosé M.H à l'aide d'un râteau. Les disques imprégnés des extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant les témoins négatifs (DMSO et l'eau distillée) ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés.

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C pour les bactéries et 48 heures à 35°C pour la levure, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition. L'expérience est répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne et Les résultats expérimentaux sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues \pm l'écart type (SD).

I.4.9. Lecture

La lecture a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibition au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits. [193]

On classe la bactérie dans l'une des catégories :

- $6\text{mm} < x < 7\text{mm}$ **Résistante (-)**
- $7\text{mm} < x < 8\text{mm}$ **Intermédiaire (+)**
- $8\text{mm} < x < 9\text{mm}$ **Sensible (++)**
- $x > 9\text{mm}$ **Très sensible (+++)**

I.5. Antibiogramme (test de sensibilité aux antibiotiques)

Le but de réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts, les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait. Nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre imprégnés des antibiotiques à différentes concentrations conditionnés par le fabricant (**Institut Pasteur, Alger**) par paquets de 50 disques (tableau n° 19).

Tableau 19 : Liste des antibiotiques et l'antifongique testés sur les bactéries et la levure.

Antibiotiques	Code	Charge
Ampicilline	AMP	10 µg
Bacitracine	B	10 UI
Céfotaxime	CTX	30 µg
Lincomycine	L	15 µg
Nystatine	-	30 µg
Pénicilline	P	6 µg
Tétracycline	TE	30 µg
Vancomycine	VA	30 µg

I.6. Etude Pharmacologique :

La plupart des activités de ce chapitre sont réalisées sur un des deux types d'animaux :

I.6.1. Les animaux

a- Les rats

Les rats Sprague Dawley d'une race suisse (figure 33) provenant de l'élevage du laboratoire de biologie de la faculté des sciences à Rabat. Les rats sont des deux sexes, en nombre égal âgés de 2-3 mois, pesant 200-300 grammes. La température dans le laboratoire est de ($20\pm 2^\circ\text{C}$). Les animaux sont logés, dans des cages d'aluminium chacune porte 4 animaux, avec un accès libre à la nourriture et à l'eau.



Figure 33: Rats de la race *Sprague Dawley* (Cliché Benattia, 2015).

b- Les souris

Les souris sont des deux sexes de la souche Balb/c d'une race suisse provenant de l'élevage du laboratoire de biologie de la faculté des sciences à Rabat. Le poids des Souris se situe entre 25 et 35 g, Ils étaient maintenus dans les mêmes conditions de température ($25\pm 2^\circ\text{C}$), l'humidité relative était située entre ($50\pm 5\%$), et l'accès à l'eau et aux aliments à volonté.

I.6.2. Activité anti-inflammatoire

L'Activité anti-inflammatoire a été évaluée en mesurant l'œdème induit par la carragénine injecté sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche du rat selon la méthode de Winter. [199]

L'étude a été réalisée selon les directives du journal officiel de la communauté européenne (JOCE) sur des rats sains et vaccinés, qui sont mis à jeun 12 h avant l'administration des produits, regroupés en quatre groupes expérimentaux renfermant chacun 10 rats.

◎ *Procédure expérimentale*

Les lots reçoivent par gavage à l'aide d'une sonde rigide à bout olivaire (figure 34) 30 min avant l'injection sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche du rat (figure 35) un volume de 0.1mL de la carragénine 1%, solution induite l'inflammation de la pête et la création d'un œdème les différents traitements comme suit :

- **Lot 1** : lot témoin reçoit une solution saline isotonique NaCl 9‰ à la dose 10 mL/kg ;
- **Lot 2** : lot à traiter, par l'extrait aqueux à la dose 500 mg/kg ;
- **Lot 3** : lot à traiter, par l'extrait éthanolique (50%) à la dose à 500 mg/kg ;
- **Lot 4** : Le lot référence a reçu Piroxicam à la dose de 12 mg/kg.



Figure 34 : L'administration orale des traitements.



Figure 35: Injection de la carragénine (Cliché Benattia, 2015).

- Les mesures des volumes de la patte postérieure droite et gauche de chaque rat doivent être effectuées avant l'induction de l'œdème et à chaque 30min, 1h30 min, 3 h et 6 h après l'administration de la carragénine, par immersion dans le liquide contenu dans la cellule du pléthysmomètre (figure 36).



Figure 36 : Pléthysmomètre (Cliché Benattia, 2015).

➤ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte gauche (PG) par rapport au volume de la patte droite (PD) témoin. Calculé comme suit :

$$\% = \frac{PG - PD}{PD} \times 100$$

PG : Patte gauche inflammée

PD : Patte droite non inflammée (saine).

➤ Le pourcentage de l'inhibition de l'inflammation a été calculé selon la relation suivante :

$$\% = 1 - \frac{(VT - V0)Le}{(VT - V0)Lt} \times 100$$

VT : Augmentation de volume de la patte à 30min, 1h30, 3h et 6h ;

V0 : le volume initial de la patte ;

Le : Lot traité ; **Lt** : Lot témoin.

I.6.3. Activité antalgique

Les analgésiques sont des substances susceptibles de diminuer ou de supprimer les sensations douloureuses,

→ **Les analgésiques vrais** : type morphine, codéïne qui ont une action sélective sur les centres de la douleur (action au niveau du cortex).

→ **Les analgésiques antipyrétiques** : type aspirine, amidopyrine qui a une activité sur la douleur et une activité fébrile par dépression du centre de la thermogénèse.

◎ Procédure expérimentale

I.6.3.1. Méthode d'étude des analgésiques vrais

- **Test du « TAIL FLICK »**

La méthode consiste à tremper la queue d'un rat dans de l'eau chaude et étudier avant et après l'administration d'une substance supposée analgésique, le réflexe de retraitement de la queue, en constituant 04 groupes de 06 rats. Les lots reçoivent par voie intrapéritonéale (**IP**) (figure 37), les différents traitements comme suit :

- **Lot 1** : lot témoin, par sérum salé à la dose 10 mL/kg ;
- **Lot 2** : lot à traiter, par l'extrait aqueux à la dose 500 mg/kg ;
- **Lot 3** : lot à traiter, par l'extrait éthanolique (50%) à la dose à 500 mg/kg ;
- **Lot 4** : Le lot référence a reçu la morphine à la dose de 5 mg/kg.

Le temps que met l'animal pour retirer sa queue est mesuré et considéré comme temps de réaction. [144]

- On mesure le temps de réflexe, et de retraitement de la queue tous les ¼ heures, dont un temps de « réaction normale de réflexe » de chaque rat est entre 2 et 4 secondes, et un temps supérieur à 6 secondes indique un effet inhibiteur sur la douleur.

I.6.3.2. Méthode d'étude des analgésiques antipyrétiques

- **Test de Koster à l'acide acétique chez la souris.**

Ce test consiste à rechercher une éventuelle protection vis à vis des crampes et torsions abdominales provoquées par l'injection (IP) d'acide acétique chez la souris. Les lots reçoivent oralement 30min avant l'injection de la solution d'acide acétique 3% par voie intrapéritonéale (**IP**) les différents traitements comme suit :

- **Lot 1** : lot témoin, par l'eau distillé un volume de 0,2 mL ;
- **Lot 2** : lot à traiter, par l'extrait aqueux à la dose 500 mg/kg ;
- **Lot 3** : lot à traiter, par l'extrait éthanolique (50%) à la dose à 500 mg/kg ;
- **Lot 4** : lot référence a reçu Perfalgan 0,1mL (25mg/kg).

L'injection provoque un syndrome douloureux qui se manifeste par des contorsions caractéristiques avec étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale. Le nombre d'étirements est comptabilisé 20 minutes après injection de l'acide acétique. [200]

➤ Le pourcentage de protection P est calculé comme suit :

$$\% = \frac{\text{Nb C Lt} - \text{Nb C Le}}{\text{Nb C Lt}} \times 100$$

Nb C Lt : Nombre moyen des crampes dans le lot témoin.

Nb C Le : Nombre moyen des crampes dans le lot traité.

Les moyennes de contorsions dans les groupes traités ont été comparées au groupe témoin. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme significative et $n = 6$ représentent le nombre de rat dans chaque groupe.



Figure 37 : L'administration de l'extrait par voie intra péritonéale (IP)
(Cliché Benattia, 2015).

I.6.4. Méthodes d'étude des psychotropes

L'étude consiste à tester l'action des extraits d'*Opuntia ficus-indica* sur l'activité psychique.

Les effets sédatifs des substances psycholeptiques sont mis en évidence chez la souris sur une série de trois tests d'équilibration et de curiosité simples et différents:

- Test de la traction.
- Test de la cheminée.
- Test de la planche à trous.

⊙ Procédure expérimentale

Les Médicaments utilisés pour tous ces tests :

- Chlorpromazine (LARGACTIL®), ampoules injectables dosées à 25 mg.
- Thiopental (NESDONAL®), soluté injectable à 10%.

a- Test de la traction

Cette méthode consiste à suspendre des souris par les pattes antérieures à un fil métallique tendu horizontalement (figure 38).

Une souris normale effectue un rétablissement en moins de 5 secondes. Tout animal qui ne parvient pas à effectuer un rétablissement qui amène au moins une des pattes postérieures à toucher le fil est considéré comme soumis à une action sédatrice.

➤ **Constituer cinq lots homogènes de 06 souris recevant par (IP) 15 min avant:**

- **Lot 1** : Lot témoin non traité;
- **Lot 2** : 10 mg/kg de chlorpromazine;
- **Lot 3** : 30 mg/kg de Nesdonal;
- **Lot 4** : 500 mg/kg de l'extrait aqueux (1);
- **Lot 5** : 500 mg/kg de l'extrait éthanolique (2).

Saisir l'une après l'autre les souris par la peau du dos et la queue et présenter le fil à leurs pattes antérieures. Lâcher l'animal aussitôt que les pattes ont saisi le fil. L'animal normal effectue son rétablissement immédiatement :

- La réaction est **positive**.
- Dans le cas contraire, la réaction est dite **négative**.



Figure 38 : Suspendre l'animal par les pattes antérieures sur le fil métallique (Cliché Benattia, 2015).

b- Test de la cheminée

Cet essai consiste à placer une souris dans un tube de verre de 30 cm de longueur. Ce tube disposé verticalement, une souris normale remonte à reculons généralement en une dizaine de secondes. Les souris sont considérées comme ayant répondu au test lorsqu'elles effectuent la montée du cylindre en moins de **30 secondes**.

➤ **Constituer 05 lots homogènes de 06 souris recevant par (IP) 10 min avant :**

- **Lot 1** : Lot témoin non traité;
 - **Lot 2** : 5 mg/kg de chlorpromazine;
 - **Lot 3** : 20 mg/kg de Nesdonal;
 - **Lot 4** : 500 mg/kg de l'extrait aqueux (1);
 - **Lot 5** : 500 mg/kg de l'extrait éthanolique (2).
- Il faut Noter le nombre de souris ayant répondu au test (réaction positive ou négative), dont le temps moyen mis par les animaux pour remonter le tube en verre (maximum 60 secondes).

c- Test de la planche à trous

Cet essai permet de mettre en évidence l'action inhibitrice des psycholeptiques et la réaction d'exploration, réaction en rapport à la fois avec la curiosité et avec le désir de fuite de l'animal. Le matériel utilisé est une planche en contreplaqué de 40x40 cm et de 1,8 cm d'épaisseur. Dans cette planche sont percés 16 trous de 3 cm de diamètre, régulièrement espacés.

La planche est disposée sur les quatre pieds d'un tabouret renversé, afin que pour les trous apparaissent sans fond (figure 39).

Les souris sont déposées une à une au centre de la planche et l'on compte le nombre de fois où la souris plonge la tête dans un des trous (figure 40).

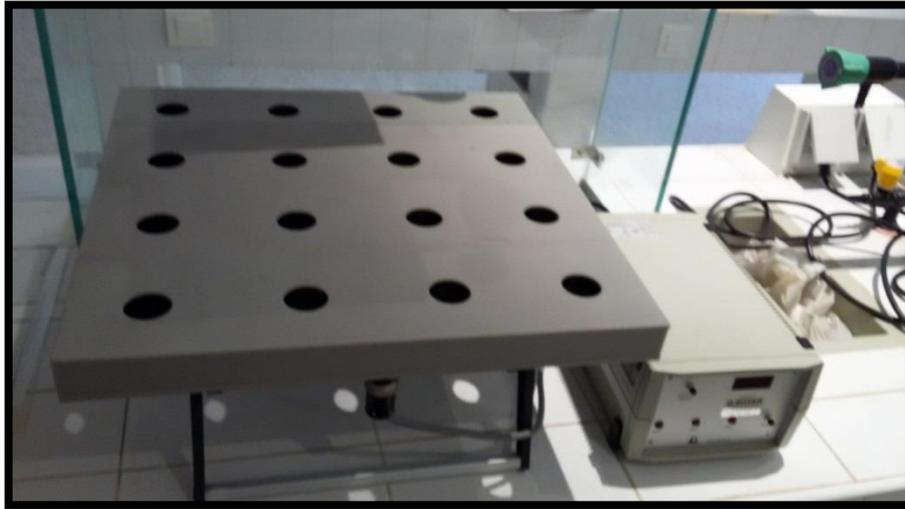


Figure 39 : planche à trous (Cliché Benattia, 2015).

➤ **Constituer 04 lots homogènes de 06 souris recevant par (IP) 10 min avant :**

- **Lot 1** : Lot témoin non traité ;
- **Lot 2** : 3 mg/kg de chlorpromazine ;
- **Lot 3** : 20 mg/kg de Nesdonal ;
- **Lot 4** : 500 mg/kg de l'extrait aqueux (1) ;
- **Lot 5** : 500 mg/kg de l'extrait éthanolique (2).



Figure 40 : l'emplacement de l'animal sur la planche (Cliché Benattia, 2015).

- Le nombre de trous explorés est relevé au bout de 1, 2, 3, 4 et 5 minutes, (les moyennes sont calculées pour chaque minute et pour l'ensemble des 5 minutes).

I.6.5. Recherche de l'activité hypnotique

Le principe de cette activité est de tester le réflexe de redressement, les animaux sous hypnotique vont perdre leur réflexe de redressement (mis sur le dos).

Pour réaliser ce test on opte à 5 lots homogènes de 06 souris recevant par (IP) :

- **Lot 1** : témoin 10mL/kg sérum salé ;
- **Lot 2** : 20mg/kg chlorpromazine ;
- **Lot 3** : 60mg/kg thiopental ;
- **Lot 4** : 500mg/kg extrait aqueux (1) ;
- **Lot 5** : 500 mg/kg extrait éthanolique 50% (2).

Les animaux ayant reçu l'hypnotique ont perdu leur réflexe de redressement, ces animaux gardent cette position, contrairement à ceux du **lot 1** qui se retournent.

Pour l'expression ces résultats Il faut noter :

- Le temps écoulé entre l'injection de l'hypnotique et la suppression du réflexe de redressement = temps d'endormissement (**T.E**).
- Le temps écoulé entre la disparition du réflexe de redressement et sa réapparition à nouveau = temps de sommeil (**T.S**).

I.6.6. Recherche de l'activité catatonigène

Le test pour mettre en évidence la catalepsie qui peut être caractérisé chez l'animal par l'administration des médicaments neuroleptiques.

Pour réaliser ce test on opte à 5 lots homogènes de 06 souris par voie (**IP**):

- **Lot 1** : témoin 10mL/kg sérum salé ;
- **Lot 2** : 30mg/kg chlorpromazine injecté ;
- **Lot 3** : 60mg/kg thiopental ;
- **Lot 4** : 500mg/kg extrait aqueux (1) ;
- **Lot 5** : 500 mg/kg extrait éthanolique (50%) (2).

Suivre toutes les 15 minutes l'évolution de la catalepsie, l'animal étant considéré comme cataleptique s'il accepte de croiser les pattes antérieures avec les pattes postérieures homolatérales. Le fait de garder cette position implique une catalepsie importante.

- Pour l'expression des résultats il faut noter pour chaque animal le temps d'apparition de cette catalepsie, ainsi la mise en évidence d'interactions médicamenteuses autrement dit l'activité neuroleptique de ces substances le Thiopental et la Chlorpromazine.

I.6.7. L'Activité hypo et antihyper-glycémiant des extraits d'*Opuntia*

Cette épreuve a été réalisée pour évaluer la glucotolérance c'est-à-dire la capacité régulatrice de l'organisme vis-à-vis d'une surcharge glucidique.

- *Echantillonnage*

Pour cela, 60 rats mâles normoglycémiques du poids moyen 210 g ont été répartis en 6 groupes de 10 rats, mis à jeun 18h à la veille et traité comme suit :

- **Lot 1** : témoins positifs en état d'hyperglycémie provoquée (**HGPO**) ;
- **Lot 2** : témoins négatifs normoglycémiques soumis seulement au stress du gavage ;
- **Lot 3** : témoins neutres normoglycémiques ne subissant aucune manipulation ;
- **Lot 4** : la référence (10 mg /kg) la glibenclamide (**DAONIL®**) ;
- **Lot 5** : Extrait (1) aqueux (400 mg/kg) ;
- **Lot 6** : Extrait(2) hydro-éthanolique (400 mg/kg).

- *Traitement*

- La première glycémie qui représente la glycémie de base (G_0) a été faite avant l'administration des différents produits (fractions et glucose).

- Les fractions ont été administrées par gavage 1heure avant l'administration du glucose qui a été injecté après par (**IP**) à la dose (2g/kg) aux différents lots.

- La glycémie a été successivement déterminée aux instants 0h, 1h, 1h30, 2h et 3h.

Tous les animaux étaient maintenus à jeun durant toute l'expérience, et la glycémie a été déterminée dans du sang capillaire. Après la fixation de l'animal grâce à un appareil de contention (figure 41)

Une légère incision au bout distal de la queue des rats permettait d'obtenir une goutte de sang qui était immédiatement déposée sur la plage réactive d'une bandelette de type AP+PLUS, et la lecture de la glycémie était automatiquement faite à l'aide d'un glucomètre de type AP+PLUS.

- Le résultat est exprimé en mg/100 mL de sang.



Figure 41 : Appareil de contention de l'animal (Cliché Benattia, 2015).

- *Analyse statistique*

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type ($n = 3$). Le logiciel Minitab est utilisé pour l'analyse de la variance (ANOVA).

Chapitre II :
RESULTATS ET DISCUSSIONS

Chapitre II - Résultats et Discussion

II .1. Détermination de la teneur en matière sèche des graines d'*Opuntia ficus-indica*

Le taux d'humidité est estimé 2.34 %, ce qui représente une faible proportion, cela peut être expliqué que les graines sont des organes de stockage d'huile, et la grande proportion d'eau se trouve au niveau des raquettes avec un taux de 95% , car le cactus est une plante xérophytique succulente capable d'emmagasiner une grande quantité d'eau, et un arbuste originaire des régions arides et semi-arides, c'est pour cette raison que l'*Opuntia* peut être utile dans la résolution du problème de l'abreuvement du bétail dans ces zones , dont le contenu élevé de l'eau présent dans les tissus de l'*Opuntia*, représente une source valable de liquide pour les animaux. [34]

Le taux en matière sèche au niveau des graines a été estimé à 97.66% ce qui est proche de celui trouvé par **Ennouri et al. (2005)** qui est égal $93.00 \pm 0.45\%$. [140]

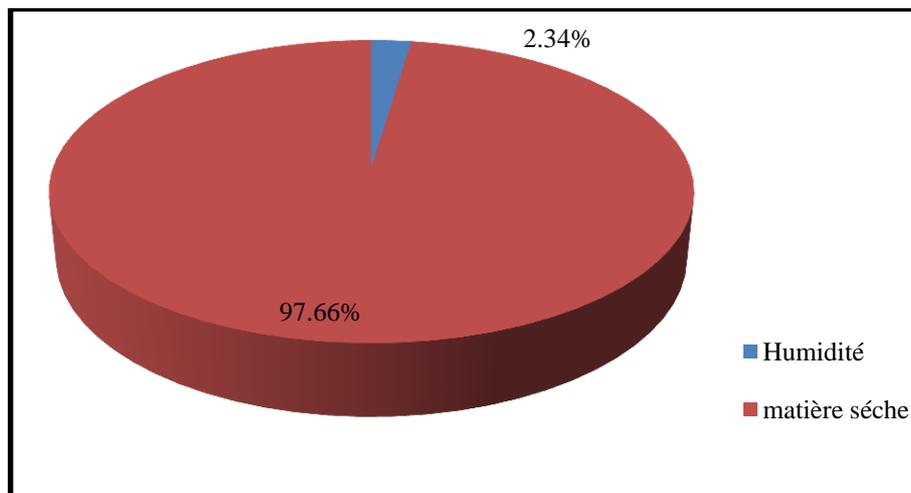


Figure 42: Teneur en matière sèche des graines de fruit d'*Opuntia ficus -indica*.

II .2. Analyse quantitative des lipides

Les huiles obtenues ont une couleur jaune foncé, et une odeur caractéristique, et se solidifient partiellement à la température ambiante et cela est due à la composition des huiles en acides gras saturés. La matière grasse est récupérée dans des flacons, bien fermés et conservés dans le congélateur à une température de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Les extractions de cette matière grasse sont dues par deux techniques différentes comme suit :

a- Extraction de l'huile par Soxhlet

L'huile obtenue de masse 4,37 g, le rendement en huile est **6.42%**, les différents rendements obtenus avec cette méthode sont comme suit :

Tableau 20 : La teneur des échantillons de graines d'*Opuntia ficus-indica* en huile.

Extractions Poids	1	2	3	4	5
Masse de la prise d'essai (g)	209	212.60	40.50	32.72	188.46
Masse d'huile récupérée (g)	13.49	11.22	2.74	2.56	12.32
Rendement %	6.45	5.27	6.77	7.82	6.54

b- Extraction de l'huile par CO₂ Supercritique

Le CO₂ présente des propriétés qui font un solvant de choix pour l'extraction des molécules naturelles.

- C'est un gaz naturel, inodore, sa faible température critique permet d'extraire à basse température, minimisant les risques de dégradation thermique, les teneurs des huiles d'*Opuntia* représentés dans le tableau suivant :

Tableau 21 : Résultats d'extraction de l'huile de graines de figue de barbarie par mode supercritique..

Conditions Opératoires	40°C, taille de la poudre ≤ 1.12 mm, temps = 155 min							
	sans co-solvant				avec co-solvant			
Co-solvant Ethanol (2ml/min)								
Code de l'échantillon	HF04	HF03	HF06	HF05	HF01		HF02	
Appareil	separex (300bar)		separex (1000 bar)		separex (300 bar)			
Pression (bar)	100	250	400	800	250		100	
Masse de la cellule vide (g)	486,766	486,288	237,746	237,745	486,169	486,181	486,174	486,18
Masse de la cellule remplie (g)	547,61	552,512	272,946	264,989	543,98	546,89	546,48	547,28
Masse de la cellule après extraction (g)	545,32	546,46	269,347	262,494	540,23	540,2	543,52	544,77
Masse de la matière sèche (g)	60,844	66,224	35,2	27,244	57,811	60,709	60,306	61,1
Masse de l'huile récupérée (g)	1,598	2,924	1,289	1,858	5,413	5,846	1,849	3,086
Masse de la cellule remplie - Masse de la cellule après extraction (g)	2,29	6,052	3,599	2,495	3,75	6,69	2,96	2,51
Masse perdue (g)	0,692	3,128	2,31	0,637	-1,663	0,844	1,111	-0,576
Rendement eu huile récupérée (g huile/100g ms)	2,626	4,415	3,661	6,819	9,363	9,629	3,066	5,050

D'après les résultats obtenus, on constate que le rendement en huile d'*Opuntia* est faible pour les deux techniques d'extraction dont la teneur oscille entre 2.62 % et 9.62 %, ces valeurs varient selon la méthode, le solvant utilisé ainsi que la durée d'extraction, c'est pour cette raison que représente l'huile la plus chèrement vendue jusqu'à présent après l'Argan. On a besoin d'une grande quantité de graines pour pouvoir extraire un volume remarquable d'huile. Son coût vient du rendement le plus faible car il n'y a que 6% d'huile dans la petite graine. Il faut 800kg de fruit pour un 1L d'huile. Nos résultats sont concordants avec ceux obtenus dans d'autres études d'après le tableau suivant:

Tableau 22: Teneur en huile d'*Opuntia ficus-indica*.

Teneur en % de Ms	Références
6.77 ± 0.51	[201]
11.75±0.10	[202]
7 à 8.5	[21]
10.90±0.10	[140]
6.9	[203]
8 à 9	[204]

II .3. Analyses physicochimiques

Le traitement chimique de la matière végétale sèche broyée a donné les résultats représentés dans le tableau ci-dessous:

Tableau 23 : L'analyse chimique de la poudre sèche de pépins de la figue de barbarie.

Humidité	Lipides	Cendres
2.34%	6.42%	91.24%

- On remarque d'après le tableau que le rendement en matière grasse est faible malgré que les quantités de la matière sèche de départ sont très élevées tandis que le pourcentage en cendres est assez important.
- L'essai des cendres totales permet d'informer sur la teneur en minéraux, ces derniers n'étant pas transformés en substances volatiles à haute température, contrairement aux matières organiques. La teneur en cendres totales a été évaluée à 91.24 %, elle représente la fraction minérale de graines d'*Opuntia ficus-indica*.

- *Teneurs en minéraux*

Les minéraux qui existent dans les graines de figue de barbarie sont pratiquement tous des éléments essentiels pour l'organisme, à l'exception du plomb et cadmium. D'ailleurs, ces éléments sont absents, ce qui minimise les effets nocifs et toxiques pour l'être humain lors de son alimentation (tableau n° 24).

Tableau 24 : Teneur en minéraux des graines de la figue de barbarie.

Elément	Teneurs %
Cadmium	Nd
Fer	0.067
Cuivre	0.006
Plomb	Nd
Manganèse	0.016
Nickel	0.0004
Zinc	0.037
Calcium	72
Magnésium	1.61
Sodium	0.49
Potassium	3.50

Nd: Non détecté

- Le calcium représente la valeur la plus élevée, il joue un rôle indispensable pour l'organisme humain, c'est un élément clé pour l'édification du squelette lors de la croissance et pour le maintien du capital osseux tout au long de la vie 99 % du calcium est contenu dans les os. Le 1 % restant joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions vitales de l'organisme : coagulation du sang, activité musculaire et cardiaque, pression artérielle, transmission de l'influx nerveux, contraction musculaire, fonctionnement de nombreuses enzymes. Ainsi on remarque une teneur importante du potassium qui a de nombreuses actions dans l'organisme comme : Il contribue au maintien de la pression osmotique intracellulaire. Il participe à la régulation des mouvements de l'eau. Il participe à la glycogénèse (synthèse des glucides) et à la synthèse des protéines. Il limite l'apparition de courbatures et de crampes, notamment chez le sportif. En faisant baisser la tension artérielle, le potassium pourrait diminuer les risques de maladies cardiaques et d'accidents vasculaires cérébraux.

Le magnésium avec une valeur assez indispensable (1.61%) il joue de très grands rôles dans l'organisme. Sa principale propriété est son action apaisante, qui aide à lutter contre le stress. Il a aussi une action décontractante sur les muscles et stimulante pour le système immunitaire. [205]

Tableau 25: Les propriétés physico-chimiques.

Densité	Indice de réfraction	Indice d'iode	Indice de peroxyde	Indice de saponification	Indice d'acide	Indice d'estérification
0.925	$\eta_D^{21.1^\circ C} = 1.4705$	199.5	1.5 meqd'o2/kg	181.44mgKOH/g	2.66 mgKOH/g	110.44mg KOH/g

- L'indice de densité est considéré comme critère physique qui permet le contrôle de la qualité de l'huile extraite, cette valeur obtenue est légèrement au-dessus de celle trouvée dans la littérature comme (El Mannoubi et al., 2009 et Ennouri et al., 2005) qui ont trouvé (0.904 et 0.903 ± 0.002), ceci nous amène à dire que l'huile est pure. [140, 202]

Le tableau ci-dessous présente la densité relative de quelques huiles brutes selon (FAO/OMSS, 2008). L'analyse de ce tableau montre que la densité de l'huile de graines d'*Opuntia ficus-indica* se rapproche de celle de maïs et de sésame.

Tableau 26 : Densité relative de quelques huiles brutes. [206]

Huile	Pépins de raisin	Maïs	Tournesol	Sésame	Colza	Soja	Coton
Densité à 20°C	0.920-0.926	0.917-0.925	0.918-0.924	0.915-0.924	0.910-0.920	0.919-0.925	0.918-0.926

L'indice de réfraction qui est également un critère important de pureté de l'huile est proportionnel au poids moléculaire des acides gras, car il nous renseigne sur l'état de dégradation d'une huile, il varie de façon intéressante selon le degré d'insaturations des lipides. [206]

Dans le cadre de notre étude, l'indice de réfraction est estimé à 1.4705, une valeur approximative avec des résultats trouvés dans d'autres études (1.471 et 1.475 ± 0.002). [140, 202]

II.4. Composition en acides gras de l'huile d'*Opuntia ficus-indica*

L'analyse des esters méthyliques d'acides gras consiste à identifier un ou plusieurs composés du mélange inconnu injecté. Pour ce faire, il faut posséder des étalons de composés soupçonnés dans le mélange. Pour un ensemble de paramètres donné, chaque composé est caractérisé par son temps de rétention.

L'analyse qualitative nous aidera à identifier un pic sur le chromatogramme, par comparaison avec le temps de rétention des étalons dans les mêmes conditions opératoires du mélange inconnu, si le temps de rétention du standard correspond au temps de rétention du pic choisi du mélange, on conclut que c'est le même composé.

Ce résultat d'identification a été confirmé par les spectres de masses de la base des données personnelle. Cette base a été conçue par les injections en GC/MS des étalons existants, dont le résultat des temps de rétention se trouve dans le (tableau n° 27), dont il y ait des échantillons traité par le premier chromatographe celui du centre de recherche et analyses physicochimiques (CRAPC), et d'autres par le chromatographe de notre laboratoire COSNA, et pour chaque chromatographe a été faite des injections pour des échantillons extraite en mode supercritique (CO_2), et d'autres par soxhlet (Sox).

Les analyses GC FID et GC-MS ont été réalisées au moins trois fois pour vérifier la reproductibilité, les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 27 : Analyse qualitative et quantitative des esters méthyliques d'acides gras de l'huile *D'Opuntia ficus-indica*.

Ech AGE	CRAPC				COSNA				Formule Chimique
	CO ₂		Sox		CO ₂		Sox		
	Tr (min)	Pourc %	Tr (min)	Pourc %	Tr (min)	Pourc %	Tr (min)	Pourc %	
Myristique C14:0	30.30	0.15	/	/	54.70	0.10	/	/	C ₁₅ H ₃₀ O ₂
Palmitique C16:0	38.57	13.98	40.02	12.42	72.43	13.14	43.71	14.20	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
Palmitoléique C16:1	39.52	1.05	/	/	74.56	0.95	/	/	C ₁₇ H ₃₂ O ₂
Stéarique C18:0	46.89	3.82	48.26	3.63	80.77	3.89	48.76	3.12	C ₁₉ H ₃₈ O ₂
Oléique C18:1	47.73	17.34	49.05	16.97	80.58	15.20	48.01	13.35	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
Linoléique C18:2	49.76	54.13	51.06	53.42	80.33	58.12	47.85	60.23	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
Linoléique C18:3	52.07	0.37	53.37	0.28	/	/	/	/	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
Arachidique C20:0	54.82	0.47	56.13	0.40	/	/	/	/	C ₂₁ H ₄₂ O ₂

- *Analyse infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)*

Les spectres infrarouges des acides gras estérifiés(FAME) ont été acquis à l'aide d'un spectromètre Mattson Genesis II FTIR en utilisant des échantillons purs sur les cellules NaCl.

Les bandes d'absorption ont été identifiées en fonction de leurs nombres d'ondes (cm^{-1}). Cette analyse est utilisée pour vérifier l'efficacité du protocole d'estérification, et la disparition complète des bandes d'absorption carboxyliques dans la région $3200\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ et la présence d'esters. Tous les échantillons présentaient des caractéristiques spectrales selon la littérature à savoir des bandes d'absorption caractéristiques pour carbonyle $\text{C}=\text{O}$ à 1744.21 cm^{-1} et $\text{C}-\text{O}$ vibration d'élongation à 1170.19 cm^{-1} , 1195.56 cm^{-1} et 1242.03 cm^{-1} . [208]

Le groupe méthyle de lipide est généralement observé à 2926.64 cm^{-1} et 2854.83 cm^{-1} . Les bandes d'absorption apparaissant à 1463.04 cm^{-1} et 1437.01 cm^{-1} ont été attribués respectivement à la $\text{C}-\text{H}$ non symétrique et vibrations de déformation symétrique. L'absorption à 723 cm^{-1} est due à la liaison $\text{C}-\text{H}$ d'alcane à longue chaîne. [209]

Le pic de base dans tous les spectres de masse de FAME saturés a été observé à $m/z = 74$ (figure 43), correspondant à $\text{CH}_3\text{OC} (= \text{OH} +) \text{CH}_2$ fragment qui est le résultat du processus de réarrangement McLafferty bien connue suivie d'une fragmentation alpha. [210]

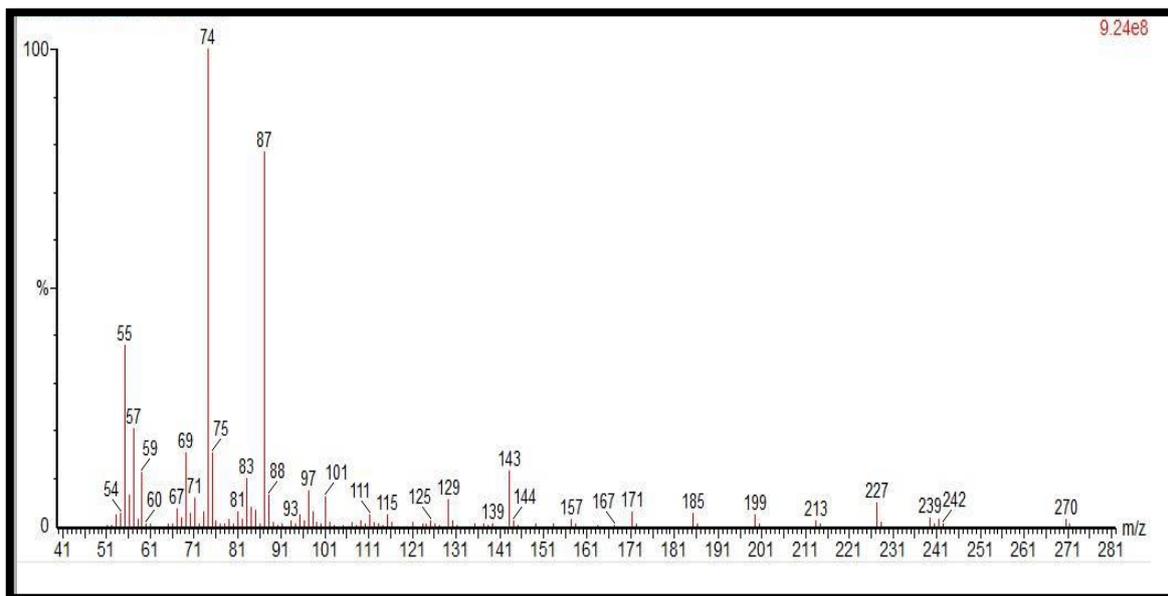


Figure 43: Spectre de masse des acides gras saturés.

Le pic de base de l'acide oléique (Oléate de méthyle) ester méthylique mono-insaturé a été observé à $m/z = 55$, comme conséquence du processus de réarrangement McLafferty et a été observé à $m/z = 222$ et le pic à $m/z = 264$ $[\text{M}-32]^+$ correspond à une perte d'un groupe méthanol (figure 44).

La fragmentation d'ester méthylique d'acides gras poly-insaturés, illustrée par la (figure 45) montre un pic de base caractéristique à $m/z = 67$ correspondant à la perte d'un ion hydrocarboné de formule générale $[\text{C}_n\text{H}_{2n-3}]^+$, où $n = 5$.

Un pic d'ion proéminent à $m/z = 222$ $[m-74]^+$ est due à la perte d'ions McLafferty, tandis que l'ion à $m/z = 264$ $[m-32]^+$ est le résultat de la perte du groupe méthanol. D'autres ions d'hydrocarbures $[C_nH_{2n-3}]^+$ prévaloir dans la gamme de masse inférieure ($m/z = 81, 95, 109, 123, \text{etc.}$).

Nos résultats concordent avec ceux trouvés par **Nizar Yeddes et al., (2012)** qui a travaillé sur deux variétés inerme et épineuse de la même espèce Tunisienne d'*Opuntia ficus-indica*, dont l'acide linoléique est le composé major avec 57,60%, l'acide oléique 22,31%, l'acide palmitique 14,30%, acide myristique 0,19%, palmitoléique 0,97%, stéarique 3,12%, linolenique 0,23%, arachidique 0,37%. [211]

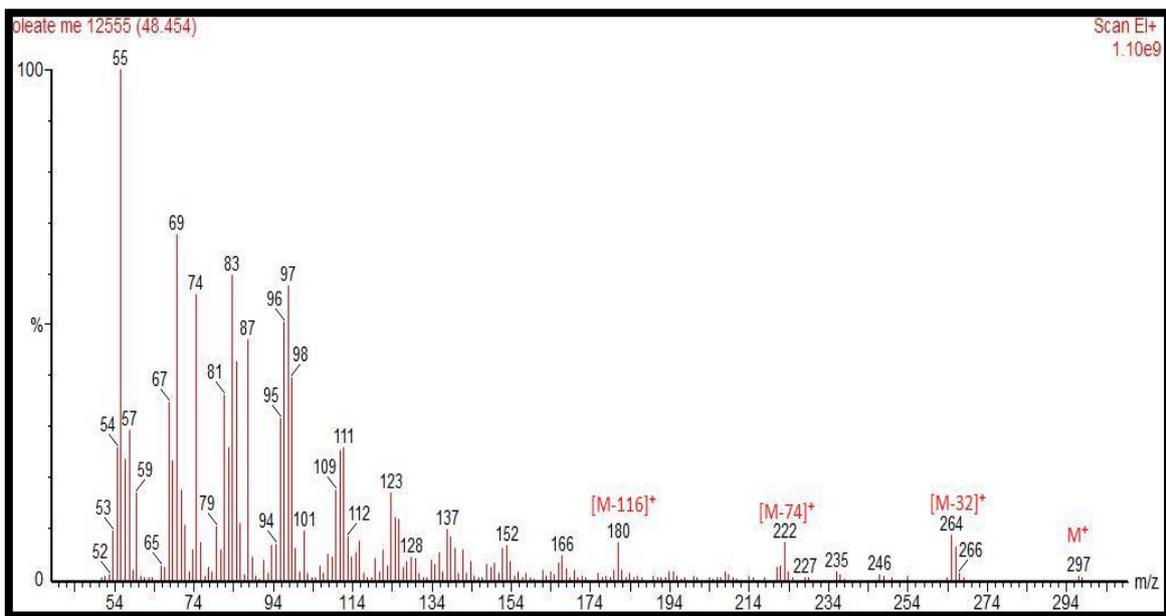


Figure 44: Spectre de masse d'Oléate méthyle.

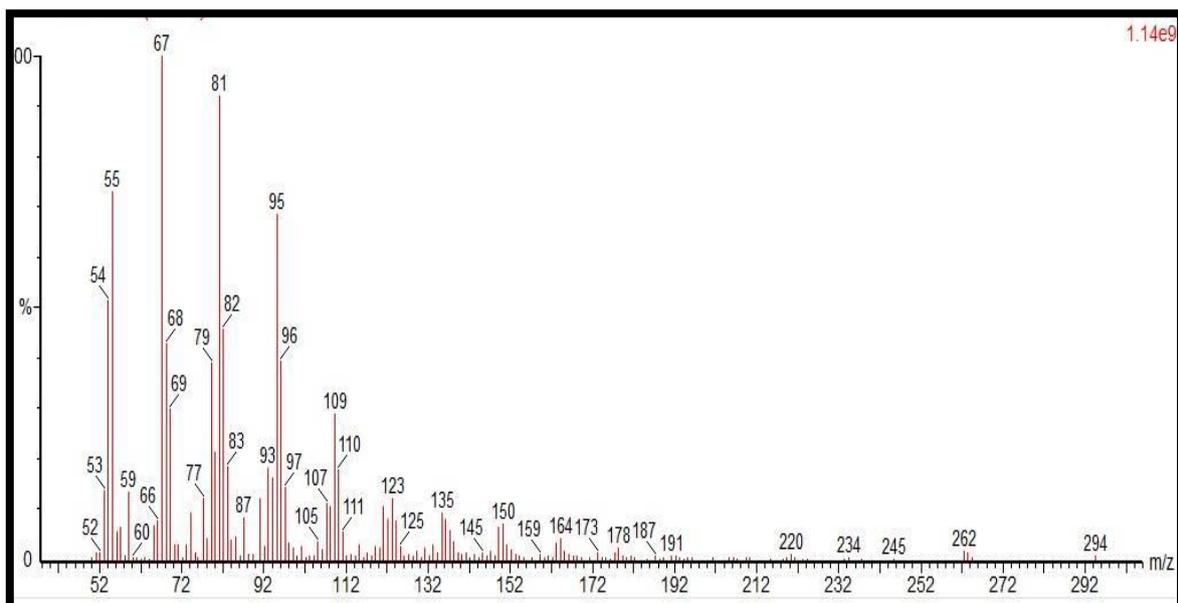
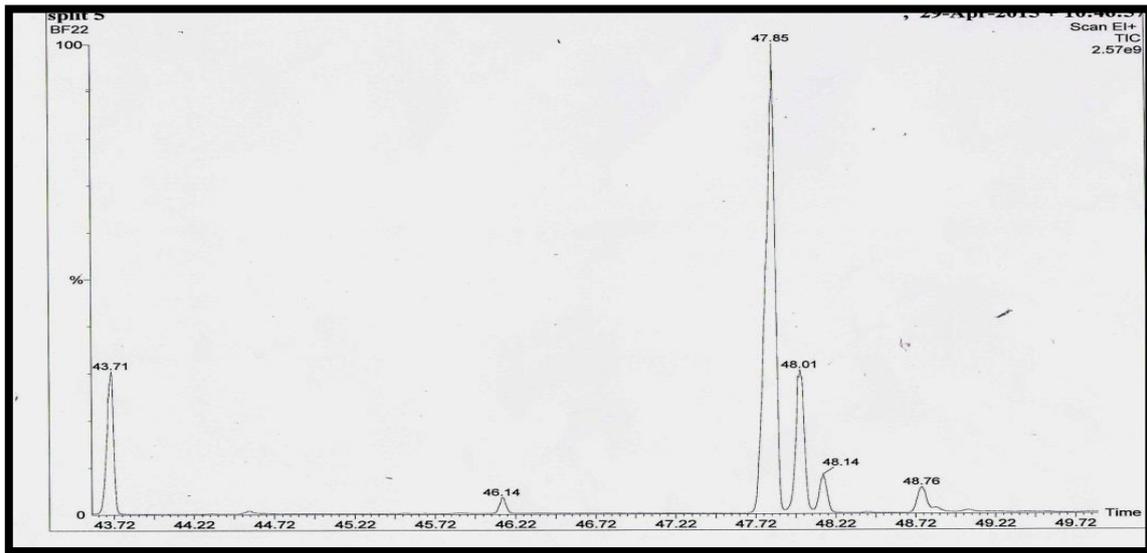


Figure 45 : Spectre de masse de linoléate méthyle.

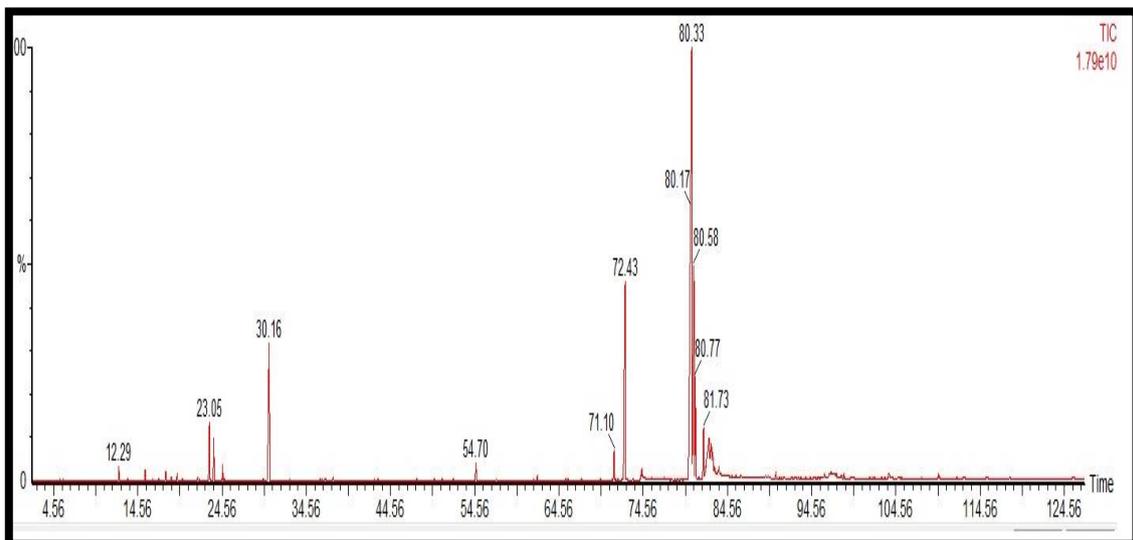
En ce qui concerne pour l'espèce Algérienne des travaux réalisés par **N. chougui, A Tamendjari et al., (2013)**, dont les résultats de cette étude, montrent que les graines d'*Opuntia ficus-indica* sont une source précieuse d'acides gras insaturés essentiels.

Les acides gras poly-insaturés sont bien connus pour leur importance dans le domaine de la nutrition et les usages en industrie pharmaceutique. [212]

- L'ensemble des résultats montre que la composition chimique en acides gras pour tous les échantillons est la même, dont les proportions majors représentées par l'acide linoléique (C18:2), oléique (C18:1), et palmitique (C16:0), avec une différence au niveau du temps de rétention, cette différence due au changement des conditions opératoires d'appareillage choisie.

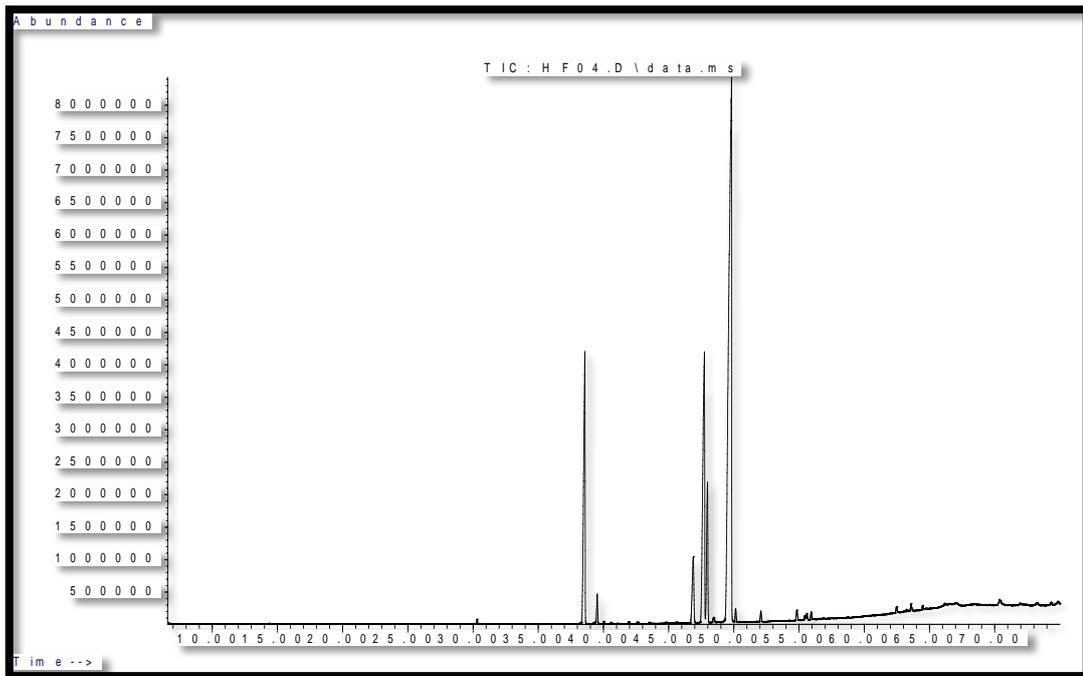


(a)

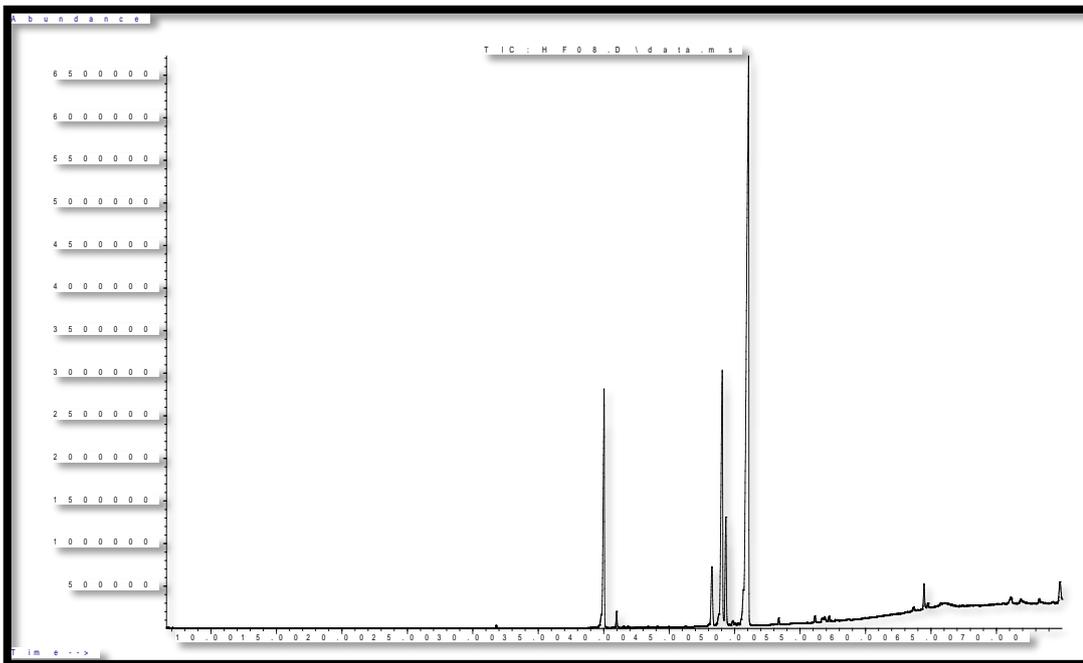


(b)

Figure 46: Les chromatogrammes de la GC/MS (COSNA) : a. Soxhlet, b. CO₂.



(a)



(b)

Figure 47: Les chromatogrammes de la GC/MS (CRAPC) : a. CO₂, b. Soxhlet.

➤ **Préparations des extraits**

Pour l'obtention des différents extraits de la poudre des graines d'*Opuntia ficus-indica* nous avons réalisé des extractions aqueuses avec l'eau distillée, et organiques avec des solvants à polarité croissante : (EP, DCM et MeOH). Ainsi une extraction à froid (macération) par trois solvants différents. Ces extractions ont permis d'obtenir sept extraits bruts qui sont : l'extrait aqueux (EAq), l'extrait d'éther de pétrole (EEp), l'extrait du dichlorométhane (EDcm), l'extrait du méthanol (EMeoh), l'extrait d'acétone (EAcét), l'extrait d'éthanol (EEtoh), et l'extrait du méthanol fractionné (EMeoh fc), plus l'extrait hydro-alcoolique, il s'agit de l'extrait d'éthanol 50% (EEtoh 50%).

Le rendement des extractions, l'aspect et la couleur des extraits sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 28 : Aspects, couleurs et rendements des différents extraits.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement
MeOH	Solide sec	Jaune verdâtre	11%
MeOH fc	Solide sec	Jaune foncée	20,33%
EtOH	Solide sec	Jaune	29%
EtOH 50%	Solide sec	Jaune	31,5%
AcOEt	Huileux	Marron claire	11,5%
Aq	Solide sec	Marron foncée	17%
DCM	Pâteux	Marron	4,33%
Ep	Huileux	Marron claire	10%

☉ D'après le tableau le calcul des rendements par rapport au poids total de la poudre de graines d'*Opuntia ficus-indica* montrent que les extraits polaires (les deux Etoh, les deux Meoh et Aq) ont donné les proportions les plus élevées en comparaison avec les extraits apolaires (Ep, Dcm, Acét). Cela peut s'expliquer par le fait que l'EP et le DCM sont des solvants organiques apolaires très volatils et juste utilisés pour dégraisser les drogues.

L'extrait Etoh 50% représente le rendement le plus élevé (31.5%), suivi par l'EEtoh (29.05 %), et l'EMeoh fc (20.33%), tandis que l'EDcm a le rendement le plus faible avec 4.33 %, d'une façon

générale on peut expliquer que la différence de rendement entre les extraits est due aux techniques d'extraction utilisées et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre, ainsi que l'utilisation des solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de la poudre de graines selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction et donc permet de séparer entre les différents groupes des métabolites secondaires (tableau n° 29).

Ces méthodes d'extraction menée à température ambiante permettent d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Dans ce contexte il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées.

Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée affectent tous le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affectent les activités biologiques médiées par ces métabolites, la méthode d'extraction affecte également tout le contenu total en phénols et flavonoïdes, et l'activité antioxydante. [213]

Afin d'utiliser les extraits pour des essais pharmacologiques, la conservation de l'état bioactif des molécules extraites semble importante. L'épuisement complet du solvant s'avère nécessaire.

Tableau 29 : Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés. [214]

Extraits	Constituants probables
Ep	Cires, chlorophylle, lipides, acides gras, stérols, triterpènes, caroténoïdes, huiles essentielles, flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés, coumarines.
Dcm	Terpénoïdes, polyphénols aglycones (flavonoïdes, coumarines, tanins, anthracenosides), chlorophylle.
MeOH	Flavonoïdes et coumarines glycosylés, flavonoïdes sulfatés, alcaloïdes, acides aminés, tanins, acides phénoliques, triterpènes et stérols glycosylés.
Aq	Flavonoïdes, aminoacides, terpènes, cires, tanins.

II .5. Analyse Quantitative des fractions minoritaires des lipides

a- Taux des tocophérols totaux

La teneur en tocophérols totaux dans les échantillons d'huiles a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (*l'* α -tocophérol), et exprimée en milligrammes par 100 gramme d'huile équivalente de la vitamine E (figure 48).

- Les résultats dans notre étude pour les deux huiles extraites par les deux techniques utilisées (tableau n° 30).

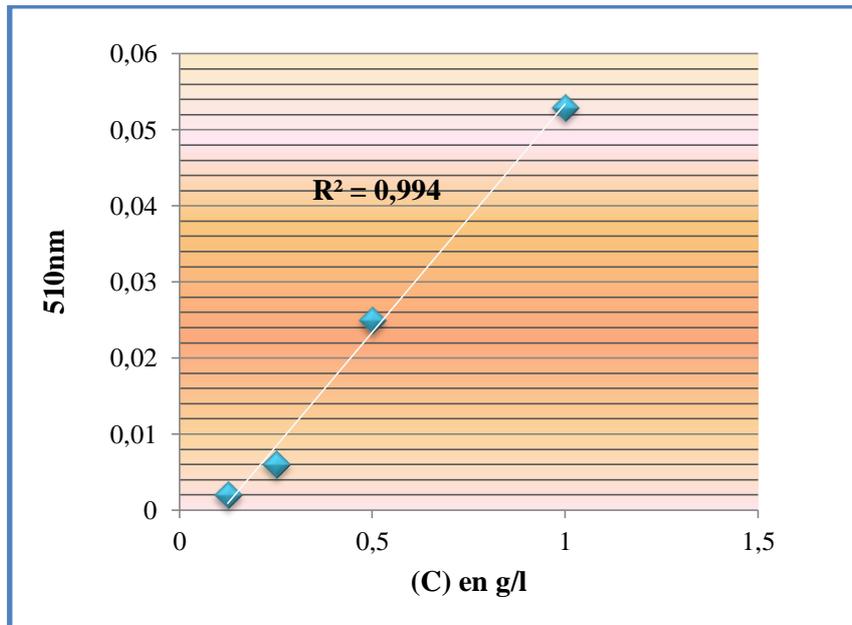


Figure 48 : Courbe d'étalonnage de l' α -tocophérol.

b- Taux des stérols totaux

La teneur en stérols totaux dans les échantillons d'huiles a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage du cholestérol, exprimée en milligrammes par gramme d'huile équivalente du cholestérol (tableau n° 30).

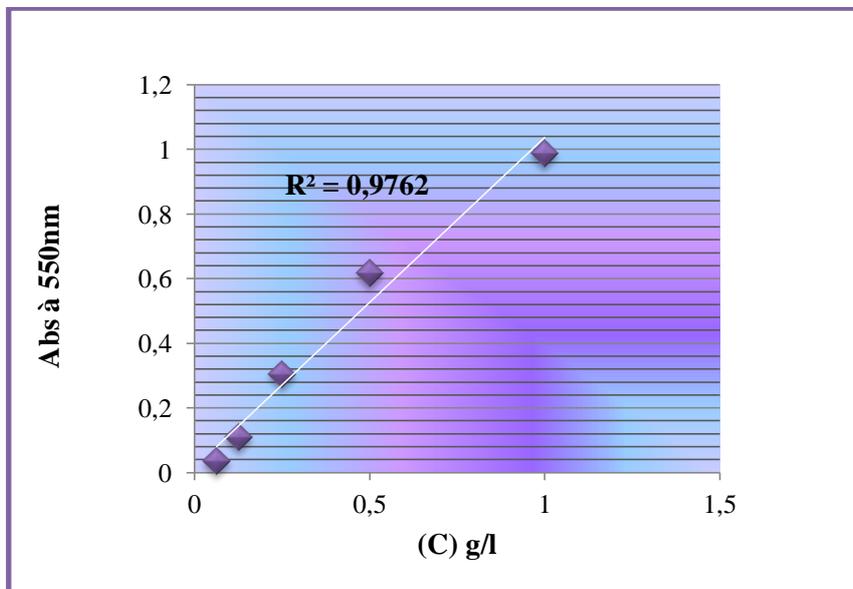


Figure 49 : Courbe d'étalonnage du cholestérol.

c- Taux des caroténoïdes totaux

L'analyse quantitative des caroténoïdes est estimée en mg/100g du corps gras en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la β - carotène.

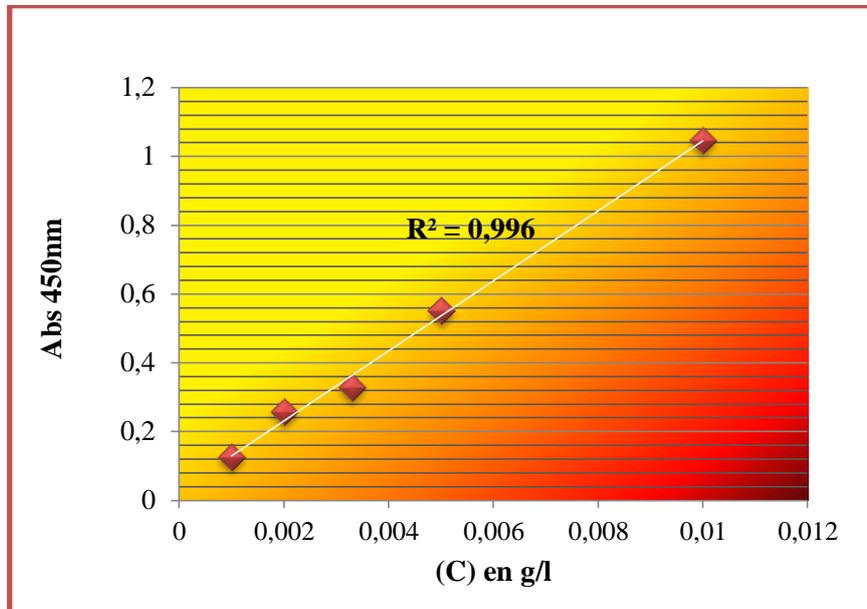


Figure 50 : Courbe d'étalonnage de la β -carotène.

Tableau 30 : Teneurs des fractions minoritaires des lipides.

Teneurs	Huile	Supercritique	Soxhlet
Tocophérols en mg/100g		91.33	75
Stérols en mg/g		15.5	18.4
Caroténoïdes en mg/100g		5.28	20.33

II .6. Estimation quantitative des composés phénoliques

a- Les polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux, en équivalent d'Acide gallique, des extraits de graines d'*Opuntia ficus indica* a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu. Pour cela, une courbe d'étalonnage a été tracée avec un extrait d'Acide Gallique à des concentrations allant de 0 à 100 $\mu\text{g/mL}$; des mesures de la densité optique pour chaque extrait ont été réalisées à 760 nm.

Les quantités de polyphénols correspondantes ont été rapportées en équivalent d'un milligramme d'étalon utilisé et déterminées par l'équation $y=ax + b$.

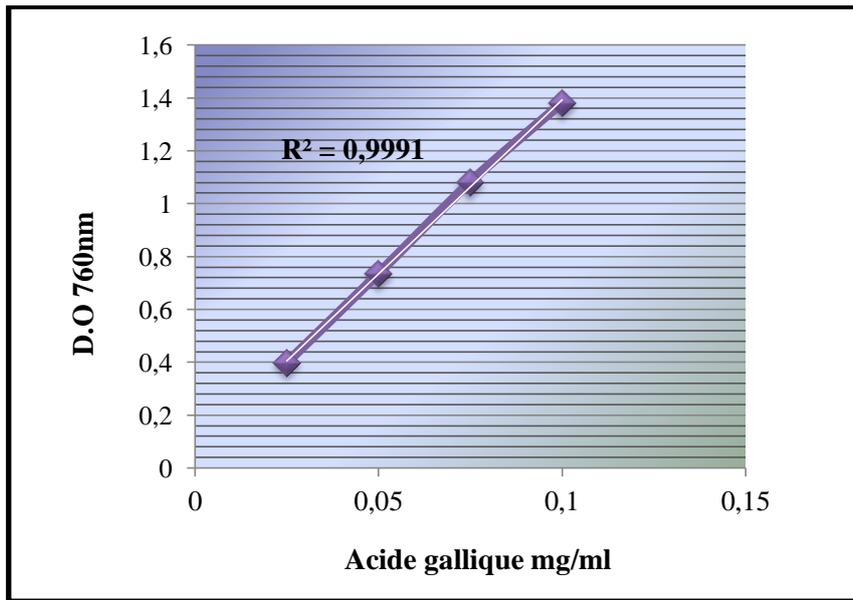


Figure 51 : Courbe d'étalonnage des polyphénols.

Pour les huit extraits de la plante étudiée *Opuntia ficus-indica* nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux (figure 52).

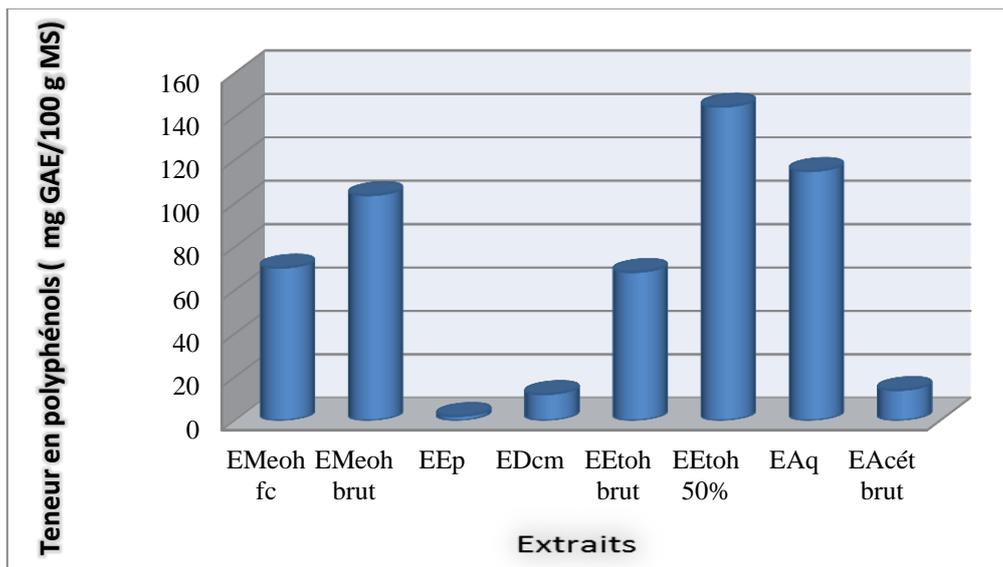


Figure 52 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d'OFI.

La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait d'Ethanol 50% , elle est de l'ordre de $144,5 \pm 0,011$ mg GAE/g MS, suivi par l'extrait Aqueux avec une teneur de $114,8 \pm 0,012$ mg GAE/g MS, puis les extraits Méthanol brut, Ethanol brut, Méthanol fractionné, Acétone brut, Dichlorométhane, et Ether de

pétrole avec des teneurs égale à $103,7 \pm 0,012$; $68,3 \pm 0,01$; $70,35 \pm 0,012$; $13,98 \pm 0,001$; $12,11 \pm 0,007$; et $2 \pm 0,001$ mg GAE/g MS respectivement.

Statistiquement la différence entre les teneurs en polyphénols en fonction des extraits est très hautement significative ($p < 0,0001$).

Il apparaît d'après nos résultats que la grande majorité des polyphénols ne sont pas hydrosolubles. Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges du solvant organique approprié avec de l'eau comme l'extrait d'Ethanol 50% (v/v). L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols. Cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité, et de l'ionisation des polyphénols dans telles solutions. La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, du poids moléculaire, et de la longueur de la chaîne carbonique dans le squelette de base. Les résultats que nous avons obtenus sont supérieurs à ceux de **Chougui N et al., (2013)**. [215]

Et approximatifs à ceux trouvés par **Díaz-Medina EM et al., (2007)** [216]

Cette différence observée dans les différentes études peut s'expliquer par la provenance géographique, le cultivar, la variété, le mode d'analyse, et surtout le degré de maturité.

Le figuier de barbarie étant riche en polyphénols, elle a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs notamment celui de **Jacques Couderc** en 1997, qui ont trouvé que les polyphénols d'*Opuntia ficus-indica* réduisaient le taux de glucose dans le sang, abaissent le taux du mauvais cholestérol, ce sont des calmants et défatigants naturels, exercent une action sédative dans des affections telles que l'angine de poitrine, les spasmes cardiaques, les maux de tête et d'estomac.

b- Les flavonoïdes totaux :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique dont la quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits de la plante qui est exprimée en mg équivalent de la quercétine (QE) par gramme d'extrait (figure 60).

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits. [193]

Les résultats du dosage des flavonoïdes (figure 61) révèlent que l'EMeoh brut contient $57 \pm 0,02$ mg QR/g d'extrait qui représente la valeur la plus élevée, suivie par les extraits EAét, EEtoh brut, EEtoh50%, EAq, EDcm, EEp, et EMeoh fc dont ses teneurs sont : $55 \pm 0,002$; $44,2 \pm 0,014$; $44 \pm 0,001$; $30 \pm 0,003$; $18,83 \pm 0,005$; $17 \pm 0,001$ et $15 \pm 0,001$ mg QR/100 g matière sèche respectivement.

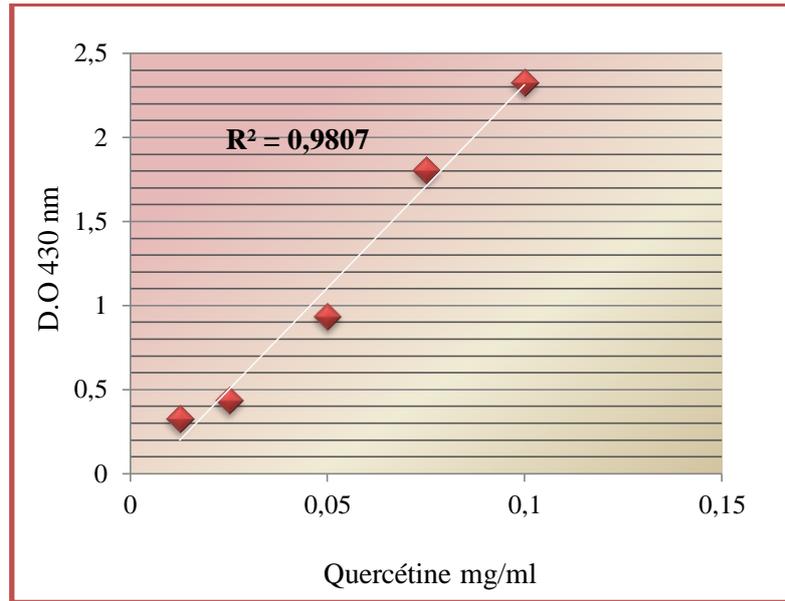


Figure 53 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

Statistiquement la différence entre les teneurs en flavonoïdes des extraits est très hautement significative ($p < 0,001$). Nos résultats sont très élevées par rapport au teneurs rapportées par **N Chougui, A Tamendjari et al., (2013)**, sur les différents extraits d'*Opuntia* cette différence trouve probablement son explication dans la différence du standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes. [212]

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

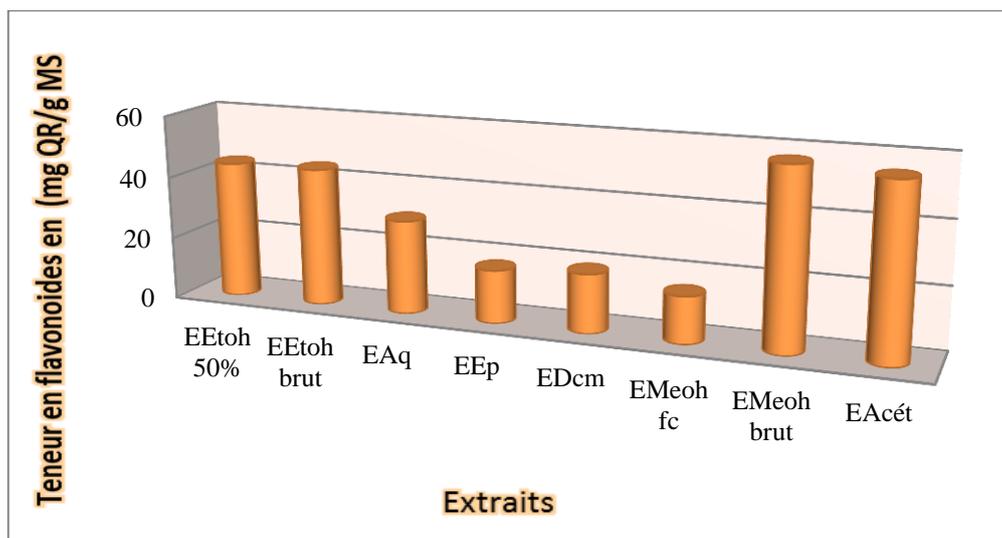
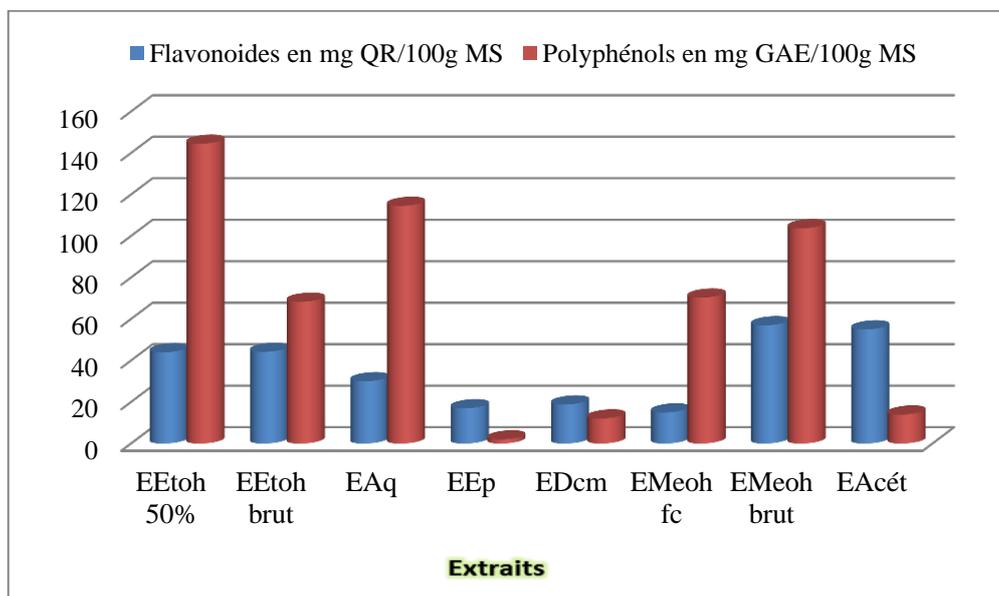


Figure 54 : Teneur des flavonoïdes de différents extraits d'*Opuntia*.

Tableau 31: Teneurs des polyphénols, et des flavonoïdes totaux dans les extraits.

Extraits	Teneurs des flavonoïdes en mg QE/100 g MS	Teneurs des polyphénols en mg d'GAE/100 g MS
Meoh fc	15 ±0.0017	70.35 ± 0,012
Meoh brut	57±0.02	103.74 ± 0,003
Ep	17±0.001	2 ± 0,001
Dcm	18.83±0.005	12.11 ± 0,007
Etoh brut	44.2±0.0145	68.3± 0,001
Etoh 50%	44±0.0011	144.5 ± 0,011
Aqueux	30±0.0031	114.87 ± 0,012
Acét brut	55±0.002	13.98 ± 0,001

Figure 55 : Comparaison de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*.

A la lumière de ces résultats, on déduit que les quantités diffèrent d'un extrait à un autre, dont il ya une forte teneur en phénols totaux dans la majorité des extraits (EEtoh 50%, EEtoh brut, EAq, EMeoh fc, EMeoh brut), ceci serait en accord avec le travail établi par **Nadia Chougui et al., (2013)**. [215]

En revanche, si on parle de taux de flavonoïdes par rapport aux teneurs en phénols totaux, la composition des extraits phénolique de fruits est flavonoïdique (presque la quasi-totalité de phénols totaux). Cette comparaison, nous a permis de confirmer les résultats obtenus lors des tests de la caractérisation chimique concernant la présence des acides phénoliques et des flavonoïdes dans les différents extraits. Une étude sur le figuier de Barbarie a montré qu'il contient de 22 à 226 µg/g d'acide gallique équivalent aux phénols totaux, de 95 à 374 µg/g de quercétine équivalent aux flavonoïdes. [218]

La présence de la quercétine dans quelques extraits peut être considéré comme un marqueur chimio-taxonomique de ce genre. [219]

II .7. Résultats d'Analyse chromatographique par HPLC

L'Opuntia ficus-indica est une plante médicinale active, et un remède naturel à cause de son polymorphisme chimique remarquable, les extraits misent à l'analyse par HPLC sont les trois extraits polaires qui présentent une quantification importante en composés phénoliques détectée par l'analyse colorimétrique il s'agit de : l'extrait hydro-éthanol (Etoh 50%), méthanol brut (Meoh brut), et méthanol fractionné (Meoh fc), les trois extraits organiques ont été analysés par L'HPLC, afin de comparer leurs profils chromatographiques avec ceux des standards et d'obtenir une information sur la nature chimique des constituants.

La phase mobile utilisée pour analyser qualitativement nos extraits, est un mélange de solvants : acide formique et l'acétonitrile. Quinze composés phénoliques purs ont été utilisés dans l'analyse HPLC comme standards, leurs temps de rétentions (Tr) représentés dans le tableau (n °32).

Tableau 32: Temps de rétention pour les standards utilisés.

N°	Standard	Temps de rétention en (min)
01	Acide chlorogénique	1.714
02	Acide gallique	2.245
03	Hydroquinone	3.617
04	Résorcinol	3.826
05	Pyrocatechol	6.58
06	Catéchine	15.92
07	Catéchine hydratée	16.7
08	Acide syringique	18.675
09	Acide caféique	19.27
10	Acide p-coumarique	24.822
11	Acide férulique	26.57
12	Acide sinapique	26.937
13	Rutin	28.233
14	Naringénine	31.641
15	Quercétine	39.493

- Les résultats de l'analyse HPLC des extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica* sont représentés par les temps de rétention (tableau n°33).

Tableau 33 : Temps de rétention et nombre de pics des extraits d'*Opuntia*.

Extraits	Temps de rétention (min)
Meoh brut	1.668
	2.215
	3.870
	6.361
	16.433
	18.223
	19.451
	25.463
	26.027
	26.520
	28.723
	31.379
	Total pics 13
Meoh fc	1.660
	2.214
	3.842
	15.656
	18.582
	19.106
	25.642
	26.121
	27.119
	28.550
	31.192
	Total pics 12
Etoh 50%	1.676
	2.217
	3.508
	3.916
	6.316
	15.829
	18.349
	18.998
	25.503
	25.905
	26.594
	27.541
	31.623
	Total pics 14

- Les constituants contenus dans chaque extrait analysé ont été identifiés par comparaison les chromatogrammes HPLC (figure 57) avec les chromatogrammes de composés standards (figure 56) basés sur les temps de rétention obtenus dans les mêmes conditions.

L'Analyse des chromatogrammes obtenus montre que l'extrait hydro-alcoolique (Etoh 50%) contient tous les composés phénoliques avec quatorze pic à l'exception de la catéchine hydratée, tandis que deux composés (Hydroquinone, Catéchine) pour l'extrait méthanol brut (Meoh brut), et trois composés dans l'extrait méthanol fractionné (Meoh fc) (Hydroquinone, Pyrocatechol, Catéchine hydratée), qui ne sont pas étaient identifiés (tableau n° 34), autrement dit que nos extraits sont riches en polyphénols (acides phénoliques) par rapports aux flavonoïdes, Les aires des pics obtenus montrent que les quantités diffèrent d'un extrait à un autre, dont le taux le plus élevé en substances chimiques est représenté par l'extrait hydro-éthanol, et ceci ça reflète, et confirme nos résultats du dosage spectrophotométrique dont le taux des phénols totaux pour cet extrait (144.5 mg d'GAE/100 g MS) Vs flavonoïdes (44 mg QE/100 g MS). Nos résultats ont montré que la grande majorité des composés bioactifs d'*Opuntia* est soluble dans l'eau, c'est-à-dire que pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'utiliser des mélanges du solvant organique approprié avec de l'eau, comme l'éthanol, dont la macération avec 50% d'éthanol à une température ambiante pendant 24 heures est la technique parfaite pour extraire l'extrait d'hydro-éthanol (EEtoh 50%) qui combine à la fois un haut rendement, une teneur en polyphénols, et une activité antioxydante importante.

Les résultats de l'analyse HPLC confirment ceux de l'analyse colorimétrique à travers l'identification de quelques composés phénoliques. Nos résultats ont aussi montré que la Quercetine, et la Rutine étaient les plus rencontrés dans les divers extraits de notre plante ; ceci serait en accord avec les résultats de **Galati et al., 2003. [226]**

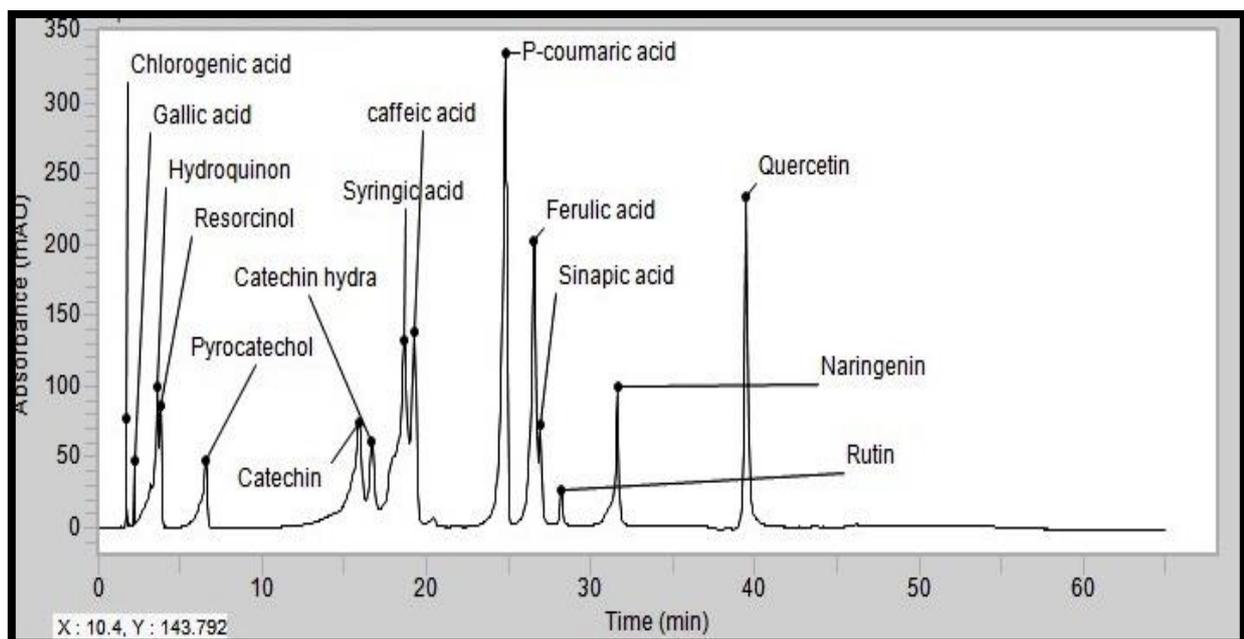
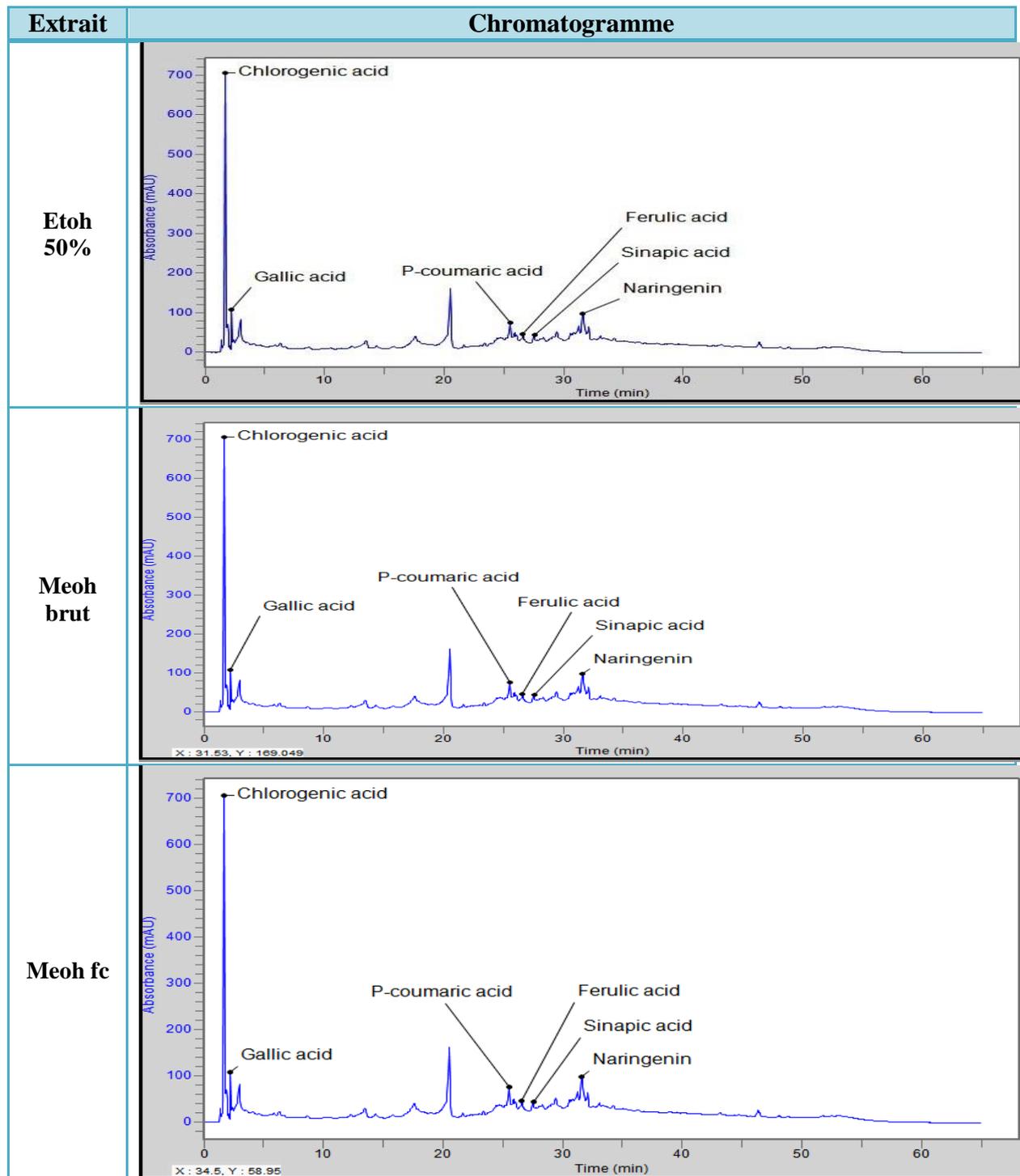


Figure 56: Chromatogramme du mélange des standards.

Figure 57 : Chromatogrammes d'HPLC des extraits de graine d'OFI à 280 nm.



Ces données ont suggéré que les graines du cactus "*Opuntia ficu-indica*" pourraient être une source potentielle de composé naturel et révèlent que les extraits polaires en particulier (hydro-alcooliques) de cette espèce sont des sources prometteuses, et des agents thérapeutiques pour la recherche de nouveaux principes actifs naturels.

Tableau 34: L'identification de différents constituants des extraits de graine d'*Opuntia ficus-indica*.

Extraits Standards	Etoh 50%	Meoh 100%	Meoh fc
Acide chlorogénique	+	+	+
Acide gallique	+	+	+
Hydroquinone	+	-	-
Résorcinol	+	+	+
Pyrocatechol	+	+	-
Catéchine	+	-	+
Catéchine hydratée	-	+	-
Acide syringique	+	+	+
Acide caféique	+	+	+
Acide p-coumarique	+	+	+
Acide férulique	+	+	+
Acide sinapique	+	+	+
Rutin	+	+	+
Naringénine	+	+	+
Quercétine	+	+	+

(-) : Absence, (+) : Présence.

II .8. Activités biologiques *in vitro*

II .8.1 Activité antioxydante

Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car en plus de leurs intérêts dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé.

De nombreuses études réalisées sur les produits naturels ont prouvé que ce sont particulièrement les composés phénoliques qui sont responsables de leurs activités antioxydantes. Nous avons donc évalué le pouvoir antioxydant de nos extraits qui se sont montrés riches en polyphénols et flavonoïdes. Pour ce faire, nous avons utilisé des méthodes à savoir : la méthode de réduction du fer (FRAP), et celle du diphenyle-picryl-hydrazyl (DPPH). Les résultats diffèrent sensiblement selon le test.

a- Réduction du fer: FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'activité antioxydante des huit extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica* (EDcm, EEp, EEtoh 50%, EEtoh brut EMeoh brut, EMeoh fc, EAcét, et EAq) a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP.

Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux. [220]

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction du Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm. [221]

En d'autre terme, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semiquantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction rédox. [222]

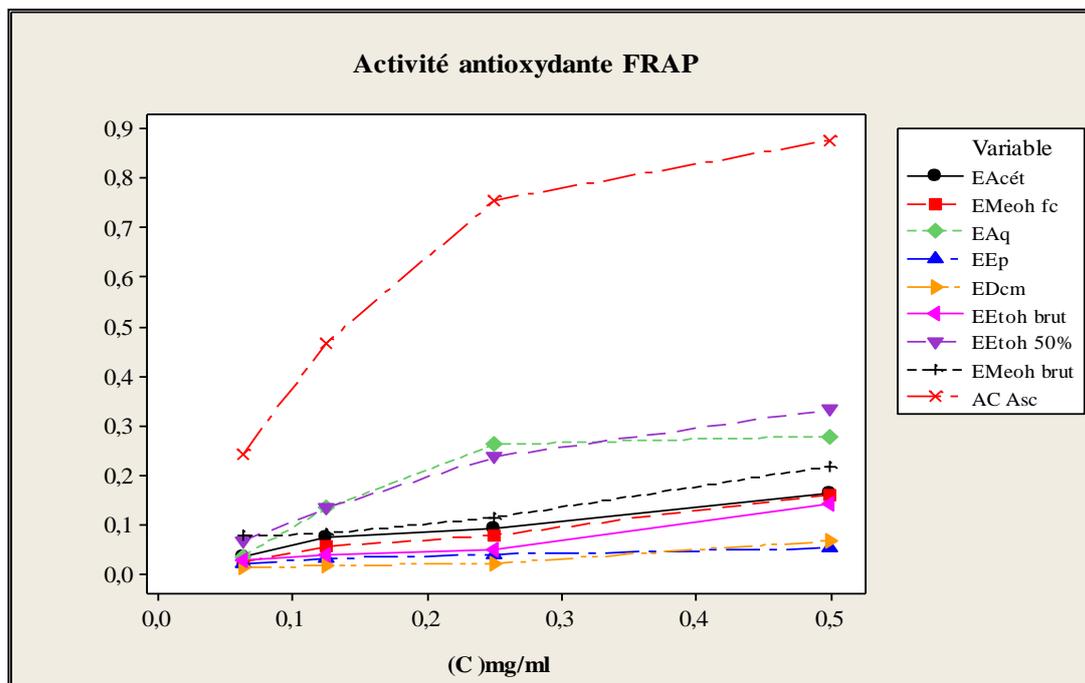


Figure 58 : Réduction du fer chez les différents extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*.

- D'après nos résultats, nous avons remarqué chez tous les extraits testés l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle aux concentrations utilisées. À la concentration de 0,5 mg/mL, le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique 50%, ainsi que celui de l'extrait aqueux d'*Opuntia ficus-indica* est supérieur dont ($\text{DO} = 0,333 \pm 0,02$), ($\text{DO} = 0,279 \pm 0,01$) respectivement par rapport aux autres extraits, mais nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique (figure 58), pour ce dernier la réduction est presque totale à la même concentration (0,5 mg/mL).

Le pouvoir réducteur de l'espèce *Opuntia ficus-indica* est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants. [223] Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. [189]

- *Etude statistique*

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique Minitab. Quelques expériences ont été faites en double et d'autres en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type (n= 2 ou 3) pour chaque cas, la différence entre le pouvoir réducteur du fer chez les différents extraits entre eux et avec le référent est très hautement significative ($p < 0,001$).

b- Evaluation de l'activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. À partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes de la figure 59, qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de différents extraits de la plante.

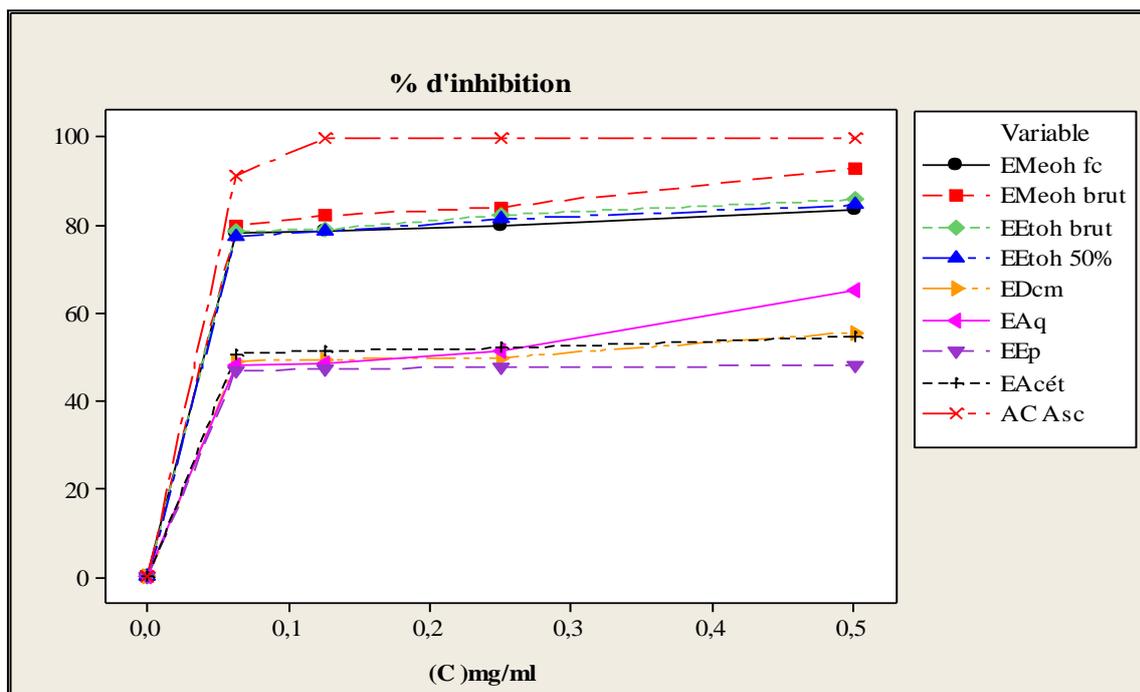


Figure 59 : Le % d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations de différents extraits

D'*Opuntia ficus-indica*.

Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC_{50}), qui constitue l'efficacité et l'activité antioxydante des différents extraits étudiés. Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions \pm SD.

Tableau 35: Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*.

EXTRAITS	IC ₅₀ mg/mL
EEtoh 50%	0,13 ±0.067
EEtoh brut	0,21±0.054
EMeot brut	0.38±0.032
EMeoh fc	0,40±0.015
EAcét	0.44±0.073
EDcm	0,57±0.067
EEp	1.25±0.085
EAg	0,15±0.07
Ac Asc	0.018±0.043

Selon les résultats enregistrés, les extraits : éthanolique 50%, aqueux, et éthanol brut, sont dotés d'un pouvoir antioxydant important, leurs IC₅₀ respectives sont : 0.13 ± 0.067; 0,15±0.07, et 0,21±0.054 mg/mL, mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est l'ordre de 0.018±00,043mg/mL. L'IC₅₀ et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnels.

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérols, flavonoïdes, et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène. [224]

Les polyphénols contenus dans les extraits d'*Opuntia ficus-indica* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. Cela est en accord avec les travaux menés sur les extraits de *Satureja montana*, espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydante et antimicrobienne. [225]

Autre étude prouve que le jus de fruits de figue de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*) siciliennes a la capacité de réduire le DPPH, et cette activité antioxydante due aux composés phénoliques qui sont des piègeurs efficaces de radicaux. [226]

Comparativement à d'autres études, nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Chougui** et ses collaborateurs en 2013, sur les extraits de graines de trois variétés différentes d'*Opuntia ficus-indica* où les pourcentages d'inhibition du radical DPPH est supérieur chez les fractions riches en polyphénols et flavonoïdes plus précisément de la variété verte. [212]

Ceci semble être en accord avec d'autres résultats dans la littérature, dont le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le radical DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant, ce dernier réagit avec le radical DPPH en réduisant un nombre égal des groupements hydroxyles portés par la molécule de l'antioxydant. [227-228]

D'autres études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales. [229-300]

Ceci mène à suggérer que l'effet antioxydant de différents extraits de notre plante peut être dû à un synergisme entre les polyphénols et d'autres composants.

L'examen statistique de ces résultats permet de mettre en évidence une différence très significative ($p \leq 0,001$) entre les valeurs d'IC₅₀ des extraits et le standard.

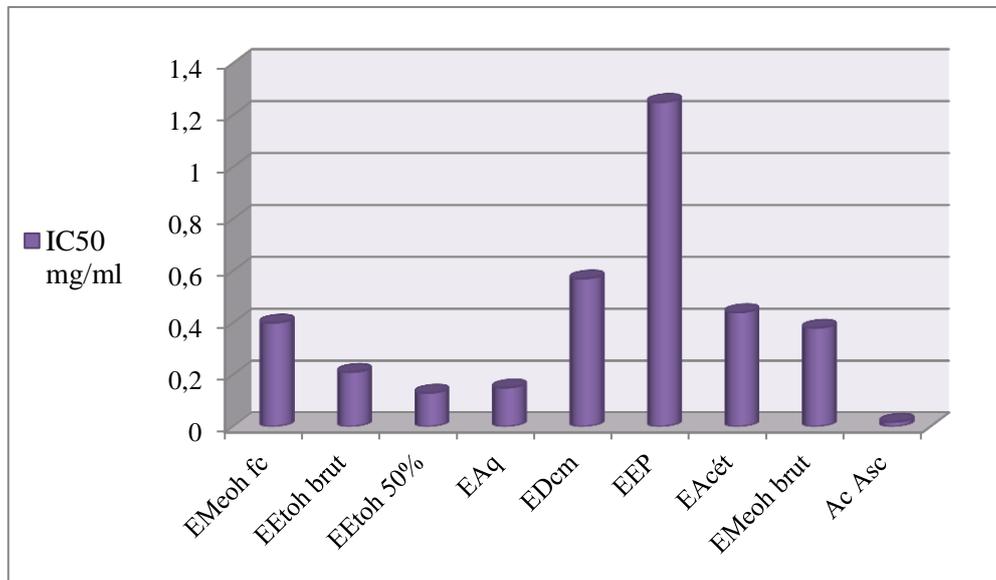


Figure 60 : Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices à 50% des différents extraits.

D'après l'histogramme illustré (figure 60), nous pouvons classer les extraits par ordre de réactivité décroissante comme suit : l'acide ascorbique > extrait éthanolique 50% > extrait aqueux > extrait éthanol brut > extrait méthanol brut > extrait méthanol fractionné > extrait acétone > extrait dichlorométhane > extrait éther de pétrole.

Le classement des extraits selon la méthode de piégeage du radical DPPH est différent du classement obtenu par la méthode de réduction du Fer. En général, les activités de nos extraits présentent des résultats intéressants, ceci suggère que cette partie de notre plante est riche en composants phénoliques qui sont responsables de l'activité antioxydante.

Par rapport aux d'autres extraits qui présentent une activité inférieure malgré que le contenu en composés phénoliques est important, cela peut être expliqué, et est due généralement à la synergie entre les différents composés antioxydants existants.

II .8.2 Résultats des tests des effets biologiques

a- La coloration de Gram

Les photos ci-dessous représentent la coloration de Gram des souches bactériennes testées observées par microscope optique, grossissement ($\times 100$) (figure 61).

b- Résultats du pouvoir antimicrobien

La sensibilité des bactéries aux extraits est déterminée selon le diamètre d'halo d'inhibition par la méthode de diffusion sur gélose (figure 62).

Les résultats montrent que tous les extraits de graines d'*Opuntia* se sont avérés inactifs contre *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Klebsilla pneumoniae* ATCC, et *Micrococcus luteus* ATCC testées, ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevé. En revanche la souche de *staphylococcus aureus* ATCC a manifesté une résistance relative vis-à-vis l'EAcét et l'EDcm, malgré les faibles zones d'inhibition observées, pareil pour la souche *Bacillus cereus* ATCC vis-à-vis les deux même extraits qu'avant plus l'EMeoh fc ,l'EEtoh brut, et l' EEtoh 50%,cela peut être expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries (Gram +).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries (Gram +) par rapport aux (Gram -), ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes de ses bactéries, dont les bactéries (Gram -) par rapport aux bactéries (Gram +) indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules, ce qui traduit la résistance des autres souches testées *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Klebsilla pneumoniae* ATCC, et *Micrococcus luteus* ATCC d'un côté, d'autre côté ces activités inhibitrices des extraits : EMeoh brut, EEtoh brut, EEtoh 50%, EAcét, et EDcm dus aussi aux teneurs en polyphénols et flavonoïdes. [231-232]

Aussi on se basant sur nos résultats d'HPLC l'analyse qualitatif a permis de mettre en évidence ces composés phénoliques pour les deux extraits EEtoh 50%, EMeoh, dont l'extrait hydro-alcoolique (Etoh 50%) contient tous les composés phénoliques (*Acide chlorogénique, Acide gallique, Acide syringique, Acide sinapique, Acide férulique, Acide p-coumarique, Acide caféique Hydroquinone, Résorcinol, Pyrocatechol, Catéchine Rutin Naringénine Quercétine*) à l'exception de la catéchine hydratée, pareil pour l'extrait méthanol (Meoh brut) à l'exception l'Hydroquinone, et la catéchine, donc ces composés pour les deux extraits ont un pouvoir antibactérien

La charge du disque influe l'activité antimicrobienne, **Rasooli** et ses collaborateurs (2008), ont remarqué que l'inhibition de la croissance est forte lorsque le disque est plus chargé. [233]

Nous avons employé une quantité moyenne de 10µl d'extrait par disque, par rapport à **Bari M.N et al., (2012)** qui ont employé des fractions plus riches : 100 µl par disque. [234]

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi sur les résultats, dont la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose est plus adaptée pour étudier l'activité des extraits aqueux et organiques que la méthode de diffusion en milieu gélosé. [235]

Les polyphénols, tels que les tannins, et les flavonoïdes comme l'épigallocatechine, la catéchine, la myricétine, la quercétine, et lutéoline sont des substances antibactériennes importantes. [236]

Les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires.

Le nombre et la position des groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatique des composés phénoliques peuvent entraîner la toxicité des microorganismes. [237-238]

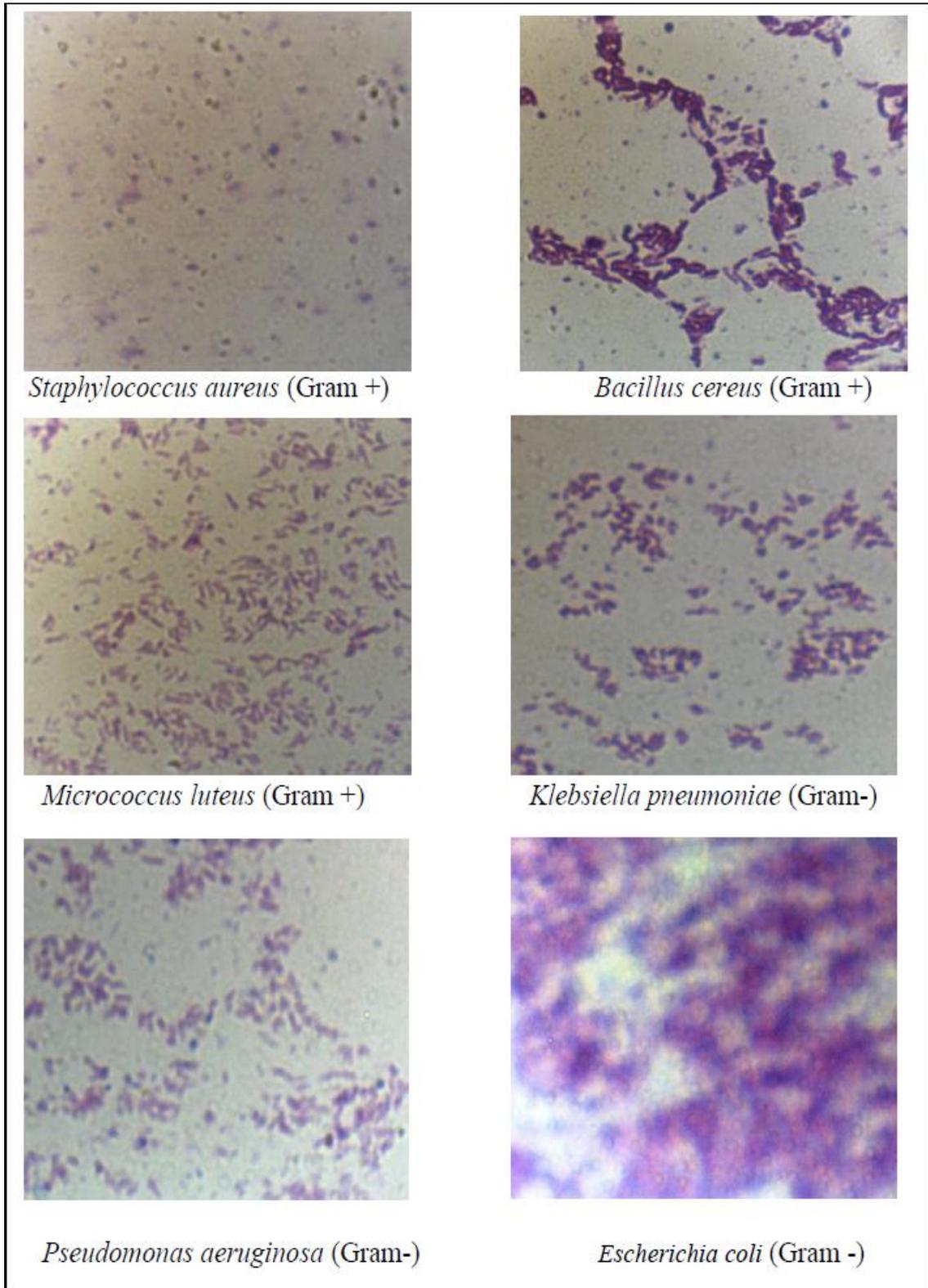


Figure 61: Photos représentant la coloration de Gram des souches bactériennes testées.

- L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires, de l'emplacement, et le nombre des groupes d'hydroxyles. [232]

Nos résultats obtenus ont été comparé avec ceux trouvés par **Somaie Shafiei, et al., (2013)**, qui ont étudié l'activité antibactérienne des extraits des raquettes d'*Opuntia stricta*. [143]

Nous avons obtenu des résultats très proches avec la souche d *Escherichia.coli* ATCC, ainsi pour la souche *Staphylococcus. aureus*, tandis que d'autres résultats récents, ont trouvés que l'extrait méthanolique des raquettes d'*Opuntia ficus-indica* a une activité inhibitrice plus importante avec un diamètre de (16 mm) contre *staphylococcus aureus*, tandis qu'une zone d'inhibition (14 mm) vis-à-vis les deux souches de (Gram -) *Escherichia. coli*, *Klebsilla. pneumoniae*, et cela ça revient au mode d'extraction dont la première étude les extraits ont subis une extraction à froid, en revanche une extraction à chaud a été établie (par soxhlet) dans la seconde étude, donc on peut dire que le mode d'extraction (le chauffage) joue un rôle important dans la solubilisation des métabolites secondaires. [239]

Tableau 36 : Caractères d'identification des germes étudiés.

Etat frais	Souches	Gram	Catalase
Bacille	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Négatif	Positif
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853		
	<i>Klebsilla pneumoniae</i> ATCC 700603		
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	Positif	
Cocci	<i>Staphylococcus aureus</i> A TCC 6538		
	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		
Levure	<i>Candids albicans</i> ATCC 26790		

ATCC : American type culture collection.

c- Effet sur *Candida albicans*

Tous les extraits d'*Opuntia* présentent des zones d'inhibition sur la levure *Candida albicans* (figure 70) avec des diamètres de : 18, 17.5, 16.5, 15, 13.5, 12, 10.5, et 10 mm, pour les extraits : Meoh brut, Meoh fc, Dcm, Etoh brut, Acét, Etoh 50%, Ep, et Aq respectivement.

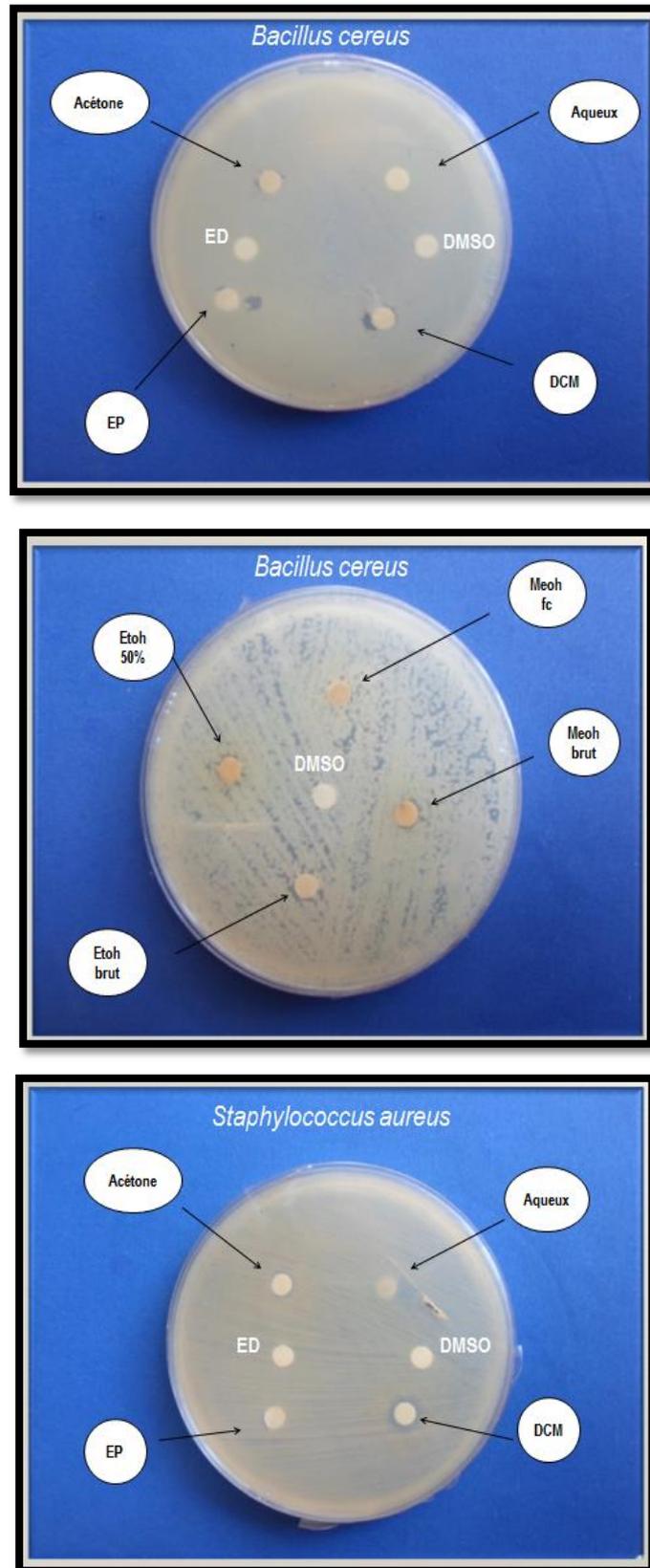


Figure 62 : Activité antimicrobienne des extraits d'*Opuntia ficus-indica* (Cliché Benattia, 2014).

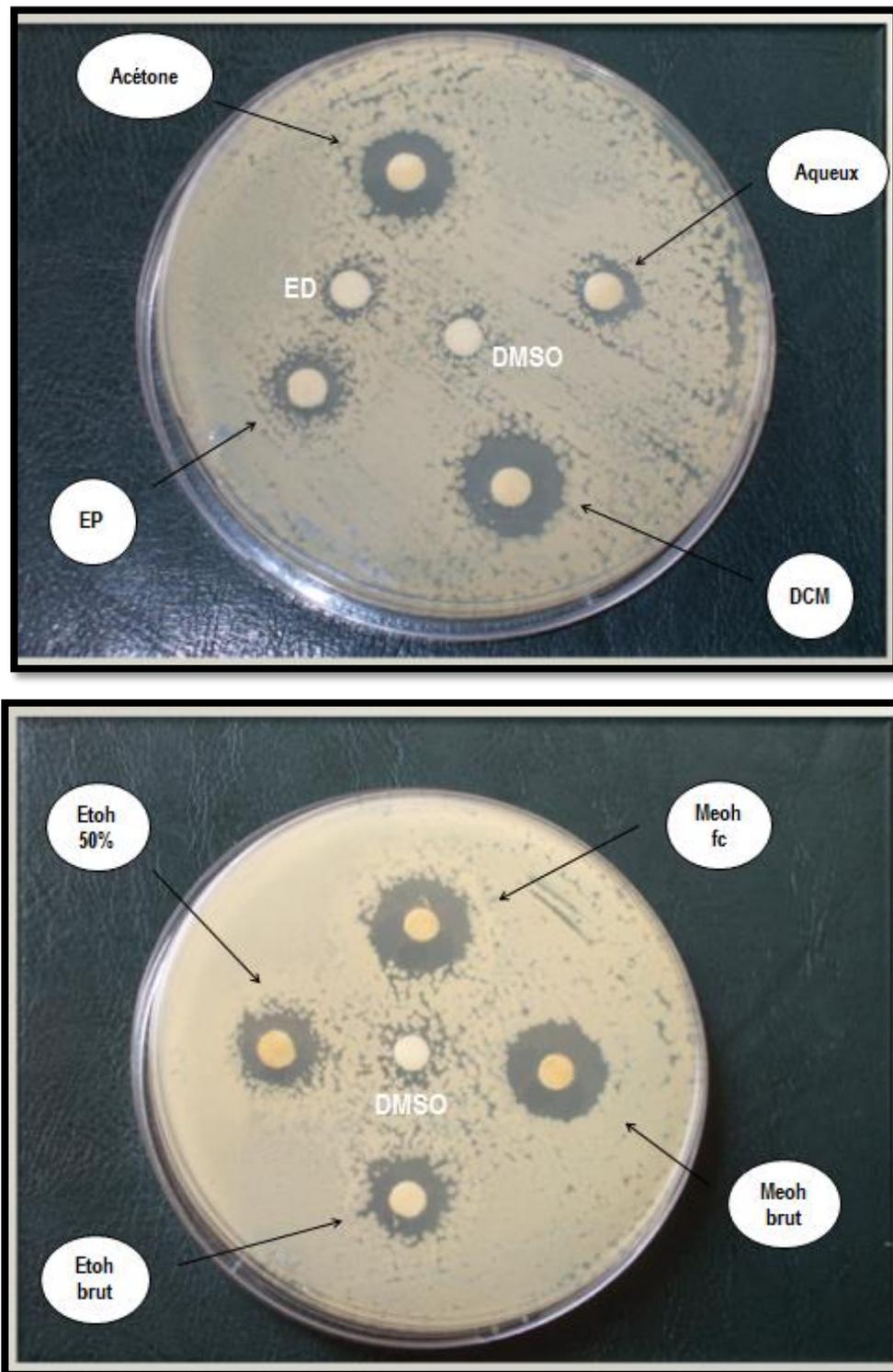


Figure 63 : Effet des extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica* sur *Candida albicans*

(Cliché Benattia, 2014).

Tableau 37: Tableau récapitulatif des résultats obtenus.

<i>Souches</i> <i>Ext</i>	B.c	E.c	K.p	S.a	P.a	M.l	C.A
Meoh brut	+	-	-	-	-	-	+++
Meoh fc	-	-	-	-	-	-	+++
Etoh brut	+	-	-	-	-	-	+++
Etoh 50%	+	-	-	-	-	-	+++
Acétone	+	-	-	+	-	-	+++
Aqueux	-	-	-	-	-	-	+++
DCM	+	-	-	++	-	-	+++
EP	-	-	-	-	-	-	+++

d- Sensibilité aux antibiotiques :

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Le tableau ci-dessous reporte les zones d'inhibitions atteintes avec les différentes souches étudiées.

Tableau 38 : Interprétation les diamètres de zones d'inhibition pour les souches bactériennes de référence.

<i>Souches</i>	ATB	AMP	B	CTX	L	P	TE	VA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		R	R	S	R	R	S	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853		R	R	R	R	R	R	R
<i>Klebsilla pneumoniae</i> ATCC 700603		R	R	S	R	R	R	R
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876		R	R	R	S	R	S	S
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538		R	R	S	R	R	S	R
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		R	R	S	R	R	S	R

R : Résistante (6mm < x < 7mm) , S : Sensible (8mm < x < 9mm).

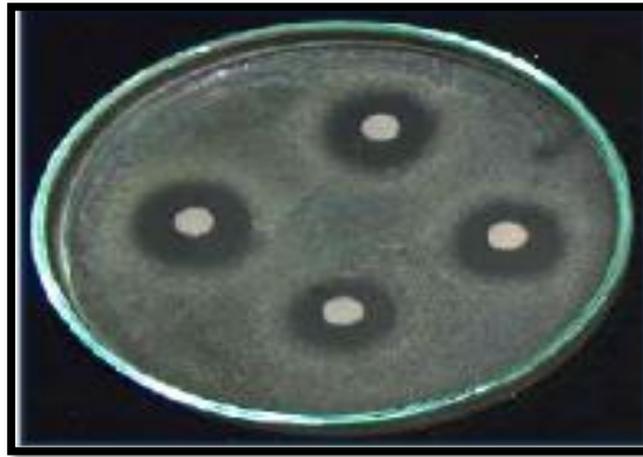


Figure 64 : Activité de la nystatine sur la levure *Candida albicans* ATCC 26790.

Concernant la levure *C. albicans*, un seul antifongique (nystatine = Mycostatine) a été utilisé et la zone moyenne d'inhibition est de 21.09 ± 1.15 mm (figure 71).

II .9. Résultats de l'étude pharmacologique

a- L'Activité anti-inflammatoire:

Après la préparation des extraits de la poudre broyée des graines des fruits d'*Opuntia* par macération à froid sous agitation, les rendements d'extraction pour l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique sont respectivement : 8.5 %, 14.5 %, qui sont administrés par voie orale aux rats.

L'injection de 0.1mL de la carragénine à 1% dans une solution saline isotonique sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche du rat induite à la création d'un œdème qui va atteindre un maximum de ($1,730 \pm 0,764$) après trois heures.

Les lots d'essais traités oralement par les deux extraits d'*Opuntia* à la dose 500mg/kg ont diminués le volume d'œdème de la patte chez les rats, dont l'administration de l'extrait d'éthanol 50% provoque un effet inhibiteur important et significatif ($P < 0.01$) de l'inflammation avec un pourcentage de 44% à 1h 30min, et 50% à 3h par rapport à l'extrait aqueux qui réduit l'augmentation du volume de la patte avec un même pourcentage d'inhibition de 25 % à les deux intervalles (1h 30min,3 h).

Pour le lot de référence le Piroxicam la réduction est due avec un pourcentage d'inhibition de 72 % à 1h 30min ainsi qu'à 3 h (tableau n°40).

La valeur négative indique que le volume absolu de l'œdème du lot témoin a été plus petit que le volume du lot traité. Les résultats sont exprimés en ($M \pm SD$) la moyenne \pm Ecart-type

Tableau 39 : Effet et pourcentage d'inhibition des extraits d'*Opuntia ficus-indica* et du Piroxicam sur l'œdème induit par la carragénine.

Traitement	Dose mg/kg	30min	% inh	1h 30	% inh	3h	% inh	6h	% inh
Témoin	0	0,975 ± 0,0919	/	1,025 ± 0,247	/	1,730 ± 0,764	/	0,935 ± 0,177	/
Piroxicam	12	0,835 ± 0,0636	10,47	0,675 ± 0,008	72,71	0,375 ± 0,0354	72,32	0,590 ± 0,0849	28,72
Extrait Aqueux	500	1,007 ± 0,0929	- 6,20	1,530 ± 1,211	25	1,477 ± 0,912	25,18	0,820 ± 0,322	14,19
Extrait d'éthanol 50%	500	0,885 ± 0,008	-1,16	1,075 ± 0,785	44,09	0,720 ± 0,0707	50,31	0,635 ± 0,0495	24,46

- L'essai primordial le plus largement utilisé pour évaluer l'activité d'un nouvel agent anti-inflammatoire et sa capacité à réduire l'œdème induit par l'injection d'un agent irritant dans la patte du rat représenté dans notre étude par la carragénine, cette dernière est une mucopolysaccharide sulfaté provenant d'une Rhodophycées, qui provoque une inflammation typiquement liée à l'activation de la cyclo-oxygénase. Cette inflammation est biphasique.

En effet, il est connu que, chez l'animal vivant, la carragénine dans une première phase provoque autour d'une heure à la synthèse des médiateurs chimiques tels que l'histamine et la sérotonine qui entretiennent l'inflammation. [240]

Dans une seconde phase représentée par un gonflement, cette molécule de référence induit la synthèse de prostaglandines principalement les protéases et les lysosomes. [241]

Cette dernière étape est sensible aux antagonistes de synthèse des prostaglandines et aux anti-inflammatoires naturels ou de synthèses telles que les glucocorticoïdes. [242]

D'après le tableau, on remarque que les effets des deux extraits d'*Opuntia ficus-indica* aqueux et éthanol 50% à la dose 500mg/kg du poids corporel se manifestant comme ceux de la référence Piroxicam dès la première heure de l'expérimentation, dont l'extrait éthanolique réduit l'inflammation provoquée par l'injection de la carragénine avec un pourcentage de : 44.09% ; 50.31% et 24.46% à la 1^{ère}, la 3^{ème}, et la 6^{ème} heure respectivement, tandis que l'extrait aqueux à la même dose a un effet inhibiteur de l'inflammation avec 25% ; 25.18 et 14.19 % à la 1^{ère}, 3^{ème} et 6^{ème} heure respectivement.

L'activité des deux extraits d'*Opuntia* atteint son maximum à la 3^{ème} heure d'expérimentation avec celle de la référence avec un pourcentage de 72.71%, au moment de la libération de prostaglandines dans le site inflammatoire.

On constate que l'efficacité de l'extrait éthanolique d'*Opuntia ficus-indica* est plus importante que celle de l'extrait aqueux, cela pourrait être lié au profil chimique de cet extrait, particulièrement à la présence de composés bioactifs parmi ces composés les flavonoïdes qui sont capables d'inhiber les oxydants

libérés par les leucocytes et d'autres phagocytes dans la zone inflammatoire entretenant ainsi l'inflammation. [243]

Le β -sitostérol est identifié en tant que principe actif anti-inflammatoire de l'extrait des cladodes bien que son activité semble être relativement plus faible par rapport à celle de l'hydrocortisone. [244]

Ceci est la première directe une preuve de l'activité anti-inflammatoire. L'extrait aqueux lyophilisé à la dose (100-400 mg/kg IP) des fruits d'*Opuntia dillenii* a été évalué une activité anti-inflammatoire contre l'inflammation induite par la carragénine chez les rats. [245]

Les résultats obtenus proposent que les extraits (aqueux et éthanolique 50%) révèlent l'activité anti-inflammatoire, nous concluons que le genre d'*Opuntia ficus-indica* a un potentiel intéressant comme nouvelle molécule anti-inflammatoire.

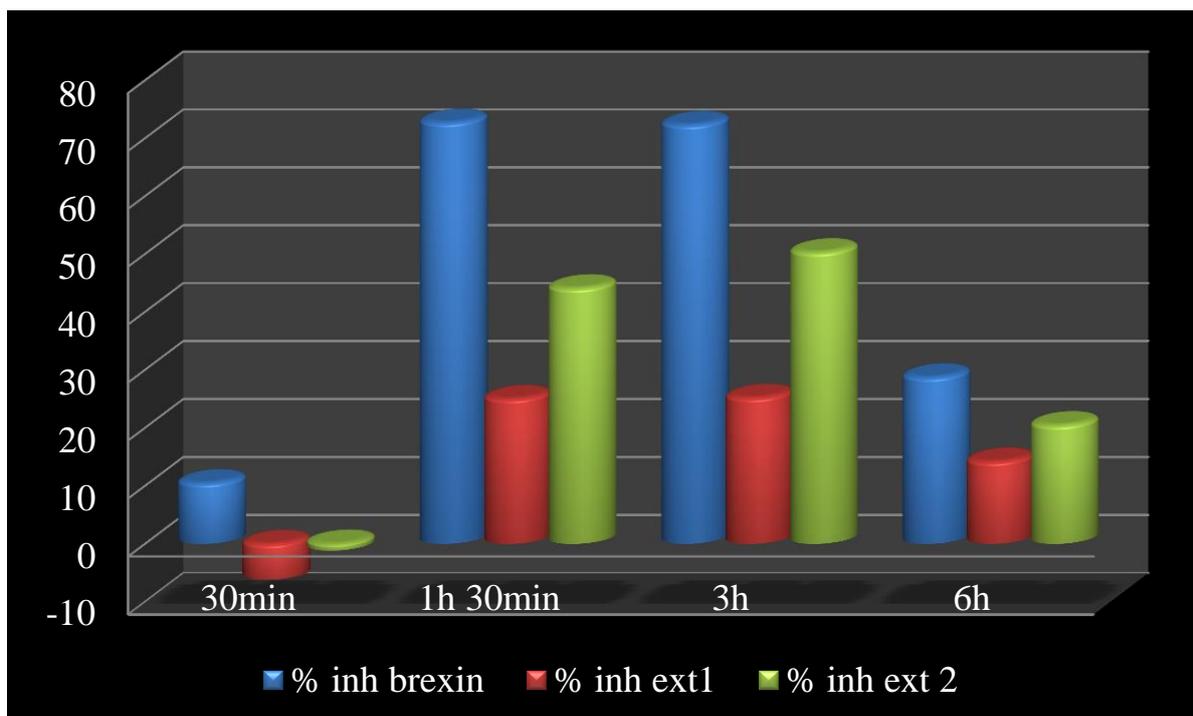


Figure 65 : Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation des différents lots.

b- Activité antalgique :

- Test du « TAIL FLICK »

À la dose étudiée 500mg/kg, l'effet des deux extraits d'*Opuntia ficus-indica* augmente significativement le temps de réaction, dont l'effet d'extrait aqueux sur la douleur est assez vite au début de l'expérience (1/2h) par rapport à l'extrait d'éthanol 50% avec une différence de réaction de 10 secondes avant la réaction de l'extrait hydro-alcoolique, et de 35 secondes que celle de la morphine 5mg/kg qui est très

élargit (tableau n° 40). La majorité des groupes chimiques présents dans l'extrait aqueux d'OFI, comme les tanins, les saponosides, les flavonoïdes, les coumarines et les anthocyanosides, sont extractibles par l'eau. L'eau semble être le meilleur solvant pour extraire la majorité des constituants chimiques responsables des différentes activités biologiques, ce qui démontre la pertinence de la forme traditionnelle d'utilisation. [246]

Selon des études antérieures, l'activité analgésique des extraits serait due à la présence des stéroïdes (campestérol, β -sitostérol, lupéol), saponines, composés phénoliques ou alcaloïdes.

L'effet antalgique de ces composés est confirmé dans plusieurs plantes médicinales comme *Aloe vera*, *Jatropha curcas*, *Jasminum amplexicaule*, *Ficus glome rata*, *Stylosanthes fruticosa*, *Elephantopus tomentosus* et *Citrullus colocynthis*.

Tableau 40: Etude de l'activité antalgique des extraits d'*Opuntia ficus-indica* par la méthode de TAIL FLICK.

Temps de (sec)	¼ h	½ h	¾ h	1 h	1 h et ½
Lots					
Témoin	4.01 ± 0.02	4 ± 0.11	5 ± 0.13	5 ± 0.19	6 ± 0.22
Morphine (5mg/kg)	10 ± 0.25	42 ± 0.45	78 ± 0.56	80 ± 0.44	96 ± 0.68
Ext 1 (Etoh 50%) (500mg/kg)	3.5 ± 0.33	17.5 ± 0.66	29 ± 0.23	31.5 ± 0.33	37.5 ± 0.16
Ext 2 (Aq) (500mg/kg)	6 ± 0.2	7.5 ± 0.1	24 ± 0.12	27 ± 0.33	36.5 ± 0.13

On résume d'après nos résultats que la suppression de la douleur est assez vite par l'extrait aqueux par rapport à l'extrait éthanolique 50%, alors que les deux extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica* présentent une activité antalgique selon le test de TAIL FLICK à la dose 500mg/Kg de poids corporel, dont cette activité est moins importante que celle de la morphine à la dose 5mg/kg.

Pour ce test, seuls les analgésiques centraux augmentent le temps de latence au saut de l'animal. La morphine agit au niveau central et son pouvoir analgésique est dû à une activité agoniste des récepteurs opioïdiques mu, associée à une activité inhibitrice de recapture neuronale de la sérotonine et de la noradrénaline. Cette activité est renforcée par le contrôle descendant inhibiteur au niveau spinal. [217]

Les deux extraits d'*Opuntia ficus-indica* a significativement inhibé la douleur induite par la chaleur. Ces résultats suggèrent que les extraits agirait via les mêmes mécanismes que la morphine et serait par conséquent un inhibiteur des processus centraux de la douleur.

- **Test de Koster à l'acide acétique chez la souris.**

Le groupe témoin ayant reçu de l'eau physiologique présente après injection intrapéritonéale de l'acide acétique à 1%, une moyenne de contorsions de 94 ± 7.13 sur une durée de 20 minutes. Le temps d'apparition de ces contorsions est de 5 minutes (tableau n° 41).

L'administration intrapéritonéale du Perfalgan à la dose de 25 mg/kg, prévient de façon significative l'apparition de contorsions liées à l'administration de l'acide acétique ($28 \pm 2,23$ Vs 94 ± 7.13) ($p < 0,001$; $n=6$).

L'administration des deux extraits de graines d'OFI aqueux, et éthanol 50% diminuent de façon importante, l'apparition de contorsions chez les souris avec des valeurs approximatives ($52 \pm 4,16$, $44 \pm 3,35$) respectivement, mais pas assez élargit comme celle de la référence, ce qui conduit un pourcentage d'inhibition de (44.68%, 53.19%) pour l'extrait aqueux, et hydro-alcoolique respectivement par rapport à 70.21 % du Perfalgan.

Tableau 41 : Etude de l'activité antalgique des extraits d'OFI par le test de Koster.

LOTS	Nb des crampes	% P
Témoin	$94 \pm 7,13$	/
Perfalgan	$28 \pm 2,23$	70,21
Ext 1	$52 \pm 4,16$	44,68
Ext 2	$44 \pm 3,35$	53,19

- L'administration intrapéritonéale (IP) d'acide acétique chez les rats a entraînée de vives contractions abdominales. Ces contractions sont dues à la production et à la libération des médiateurs algogènes via les cyclooxygénases (COX) et la biosynthèse des prostaglandines. [247]

Ces médiateurs libérés sensibilisent les nocicepteurs cholinergiques et histaminiques péritonéaux. Le test à l'acide acétique permet la mise en évidence des effets analgésiques de faibles intensités, mais ce potentiel analgésique est non spécifique. [248]

Car, il n'est pas possible d'indiquer si ce potentiel analgésique résulte d'une action périphérique ou centrale. [249]

L'administration du Perfalgan (25mg/kg) en traitement préventif aux souris a inhibé de façon significative l'action algogène de l'acide acétique. Cette activité analgésique résulte de la suppression de la formation des médiateurs de la douleur dans les tissus périphériques. [250]

Les résultats obtenus montrent que les extraits d'*Opuntia ficus-indica* présentent un effet analgésique significatif en réduisant le nombre de contorsions abdominales. Ceci suggère que ces extraits possèderaient des composés qui agiraient selon le même mécanisme que la référence, et par ce fait, inhiberaient la synthèse des prostaglandines.

Tous les analgésiques étant doués de la propriété d'inhiber les contorsions abdominales induites par l'acide acétique, ce test est utile pour effectuer un premier tri des substances possédant une action analgésique mais ne permet pas de donner avec précision le mode d'action de la substance testée. [251]

Dans tous ces tests, la dose de 500mg/kg, a été efficace et significativement inhibée les différents modèles de douleur comparée au témoin négatif traité avec l'eau distillée. A l'issue de ces résultats, il ressort que les deux extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica* (aqueux, et éthanolique 50%) possèderaient des propriétés analgésiques centrale et périphérique, dont l'activité analgésique centrale de l'extrait a été évaluée en testant son effet sur la douleur induite par un stimulus thermique (l'eau chaude) par le test de TAIL-FLICK, et périphérique sur la douleur induite par un stimulus chimique (injection d'acide acétique) par le test de Koster.

Des résultats similaires ont montré que la fraction aqueuse des fruits d'*Opuntia dillenii* présente des propriétés analgésiques sur la douleur induite chimiquement et thermiquement, et que la fraction alcoolique des raquettes d'*Opuntia ficus-indica* présente des propriétés analgésiques et anti-inflammatoires. [245-252]

c- Méthodes d'étude des psychotropes

L'étude sert à mettre en évidence l'activité psychique de l'animal sous l'action des drogues grâce à des d'essais (tests) pharmacologiques appropriés.

- *Test de la traction*

Après de la mise des souris par les pattes antérieures sur un fil métallique pour les faire suspendre, tous les animaux du lot témoin qu'ayant reçu que de l'eau physiologique et celles du quatrième lot qui sont traité par l'extrait aqueux par voie intrapéritoniale à la dose 500mg/kg, effectué un rétablissement en moins de 5 secondes la réaction est positive, contrairement aux animaux des autres lots qui présentent des chutes (figure 66) dont le lot traité par l'extrait d'éthanol 50%, on compte seulement deux souris sur six qui perdre son équilibre, c'est presque le même effet pour le lot sous l'action de la thiopental à la dose 30 mg/kg, tandis que le lot traité par la chlorpromazine à la dose 10 mg/kg tous les animaux présentent des chutes et ne parviennent pas à effectuer un rétablissement qui amène au moins une des pattes postérieures à toucher le fil est considéré comme soumis à une action sédatrice, la réaction est dite négative (tableau n°42).

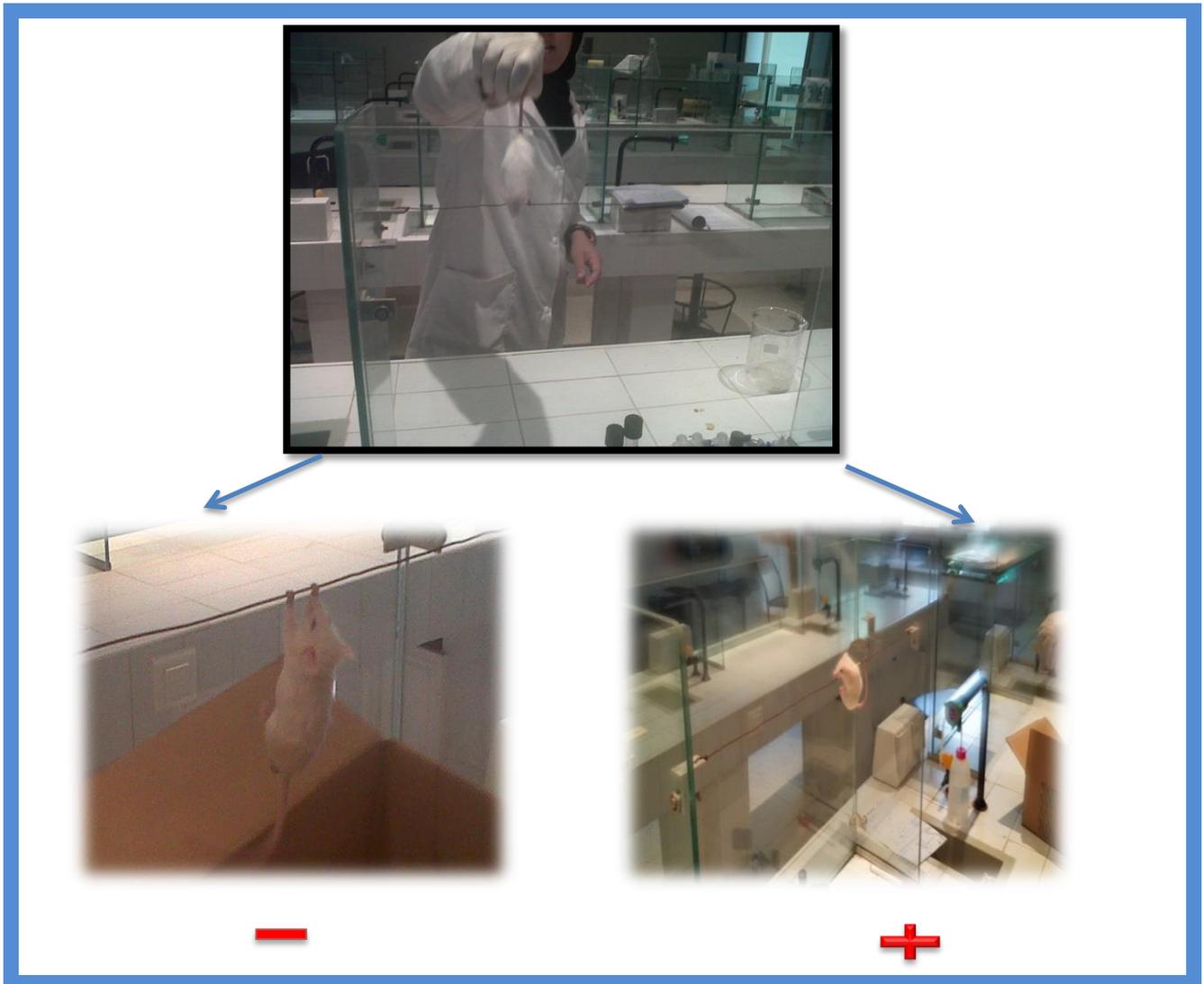


Figure 66 : Photos du test de la traction (Cliché Benattia, 2015).

- *Test de la cheminée*

Tous les animaux des cinq lots :

- Lot Témoin non traité, les deux lots d'extraits (aqueux et éthanol 50%) à la dose 500mg/kg, et celui du médicament le Nesdonal à la dose 20 mg/kg, ayant répondu au test (réaction positive), dont le temps moyen mis par les animaux pour remonter le tube en verre est 2 min, sauf le lot sous l'action de la chlorpromazine à la dose 5mg/kg, les animaux ne répondent pas au test, et leur comportement est long (réaction négative).

- *Test de la planche à trous*

Le nombre de trous explorés par les souris au bout de 5min sous l'action du Thiopental à la dose 20mg/kg est approximatif par rapport au lot témoin (42 Vs 48), tandis que les animaux injecté de la chlorpromazine à la dose 3 mg/kg explorent seulement 6 trous, dont la réaction des animaux au cours de l'essai est très longue et inhibée (action sédatrice).

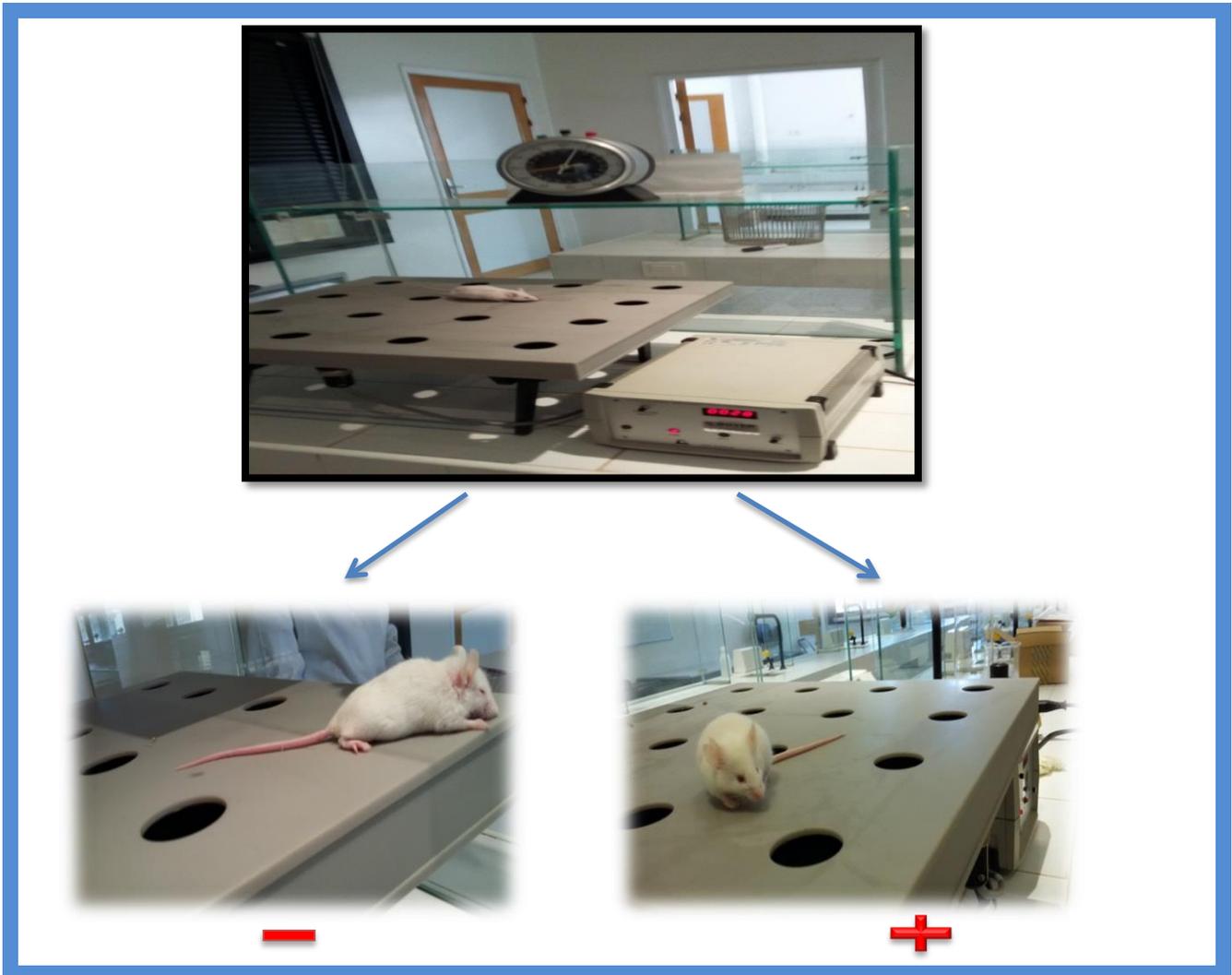


Figure 67 : Photos du test de la planche à trous (Cliché Benattia, 2015).

- La réaction des souris sous l'action d'extrait aqueux à la dose 500mg/kg est un peu allongée, dont le nombre des trous explorés est de l'ordre 34 par rapport à 48 pour le lot témoin, pour l'extrait d'éthanol 50% à la même dose, on constate que la réaction est inhibée, et la curiosité des animaux avec le désir de fuite est diminué par rapport à l'extrait aqueux, dont le nombre des trous explorés au bout de 5minutes est 21 par rapport à 48 du lot témoin. La différence du comportement des animaux au cours du test, ainsi que les moyennes sont calculées pour chaque lot au bout de 5 minutes (tableau n°42).

- Pour les Activités psychotropes (action sédatrice) les résultats sont exprimés par rapport au lot témoin et au lot de la référence:

- **Test de traction** : Le temps de rétablissement des souris traitées par les produits testés est nettement allongé par rapport au lot des souris témoins. En plus nous avons enregistré des chutes dans le lot des souris traitées par l'extrait éthanolique 50% (**Ext2**).

- **Test de la cheminée**: Nous avons noté une perte d'initiative et de la curiosité dans le lot des souris traitées par l'extrait éthanolique 50 %(**Ext2**).

- **Test de la planche à trous** : Les produits testés surtout l'**Ext2** diminue le nombre cumulatif de trous explorés (en rapport avec la curiosité) et le nombre d'espaces parcourus entre deux trous (en rapport avec l'activité motrice).

➤ Interaction médicamenteuse

Le lot traité par la chlorpromazine avec les trois doses utilisées prolongent l'effet sédatif par rapport au lot traité par le thiopental. L'ensemble des résultats semble indiquer que l'extrait éthanolique 50% (**Ext2**) à la dose 500mg/kg est un psychomoteur des souris vis-à-vis le chlorpromazine, et il exerce un effet sédatif sur le système nerveux central par rapport à l'extrait aqueux (**Ext1**) à la même dose, mais son action sédatrice est moins importante que celle du thiopental.

Tableau 42 : Action sédatrice des extraits de graines d'*Opuntia ficus-indica*.

Doses (mg /kg)	/	20, 30	3, 5, 10	500		
Lots	Témoin	Thiopental	Chlorpromazine	Ext1	Ext2	
Traction	Nombre de souris	6	6	6	6	
	Nombre de chute	0	3	6	0	2
	Réponse (+) ou (-)	+	+	-	+	+
Cheminée	Nombre de souris	6	6	6	6	4
	Réponse (+) ou (-)	+	+	-	+	+
Planche à trous	Trous explorés au cours de 5 minutes	48	42	6	34	21
	t moy= somme ti moy /5	28.8± 9.46	26.6± 8.93	5.2± 0.8	20.6± 6.26	20.8± 5.2

d- L'activité hypnotique

On utilise comme critère de sommeil la perte du réflexe de redressement et l'on détermine pour chaque souris le temps d'endormissement (**TE**) et la durée de sommeil.

Les animaux sous l'action de l'extrait aqueux ne perdent pas l'équilibre et le réflexe de redressement (mis sur le dos), dont le temps d'endormissement (**TE**) qui correspond le temps écoulé entre l'injection de l'hypnotique et la suppression du réflexe de redressement est le même que celui du lot témoin égal 1seconde, pareil pour le temps de sommeil (**TS**) qui correspond le temps écoulé entre la disparition du réflexe de redressement et sa réapparition, par contre les autres extraits présentent des temps allongés dont le temps d'endormissement (**TE**) le plus élevé est celui du lot de la chlorpromazine à la dose 20 mg/kg avec une valeur de 35minutes, et un temps de sommeil (**TS**) 70min, par rapport au lot de thiopental à la dose 60mg/kg, qui présente le contraire un temps de sommeil (**TS**) le plus élevé avec une valeur de 203minutes, et un temps d'endormissement (**TE**) faible seulement 2minutes.

L'injection par voie intrapéritoniale l'extrait d'éthanol 50% à la dose 500mg/kg conduit à un temps d'endormissement égal à 5minutes, et un temps de sommeil de 27 minutes.

Les animaux sous l'action du thiopental à la dose 60mg/kg par voie intrapéritonéale perdent son équilibre et le réflexe de redressement en quelques minutes, et la suppression de ce réflexe ça traîne, alors l'injection entraîne un sommeil prolongé, par contre l'administration par voie intrapéritonéale de la chlorpromazine à la dose 20 mg/kg provoque un sommeil assez court chez la totalité des animaux.

L'ensemble des résultats (tableau n° 43) montrent que l'extrait d'éthanol 50% d'OFI à la dose 500mg/kg a un effet hypnotique moins important que celui de la chlorpromazine à la dose 20mg/kg. L'hypnose due par le thiopental à la dose 60mg/kg est très puissant traduit par un sommeil et inconscient prolongé.

Tableau 43 : Test de retournement.

LOTS Temps	Témoin	C	T	EXT 1 Aq	EXT 2 Etoh 50%
Nb Souris	06	06	06	06	06
TE	1s±0.001	35 ± 0.09 min	2 ± 0.01min	1s±0.001	5 ± 0.02min
TS	1s±0.001	70 ± 0.03min	203± 0.14 min	1s±0.001	27 ± 0.12min

e- L'activité catatonigène

Cette activité est caractérisée chez l'animal sous l'effet des médicaments neuroleptiques par l'association de la perte de l'initiative motrice, et la plasticité, l'animal étant considéré comme cataleptique s'il accepte de croiser les pattes antérieures avec les pattes postérieures homolatérales.

Le fait de garder cette position implique une catalepsie importante.

➤ Pour les deux lots témoin, et extrait aqueux on ne constate pas une catalepsie, tandis que pour les autres lots tests, l'activité catatonigène est mise en évidence, dont sous l'effet de la chlorpromazine à la dose 30mg/kg (IP) cette position dure de 25-30min, et les animaux gardent le réflexe de retournement, alors que pour le thiopental à la dose 60mg/kg la catalepsie totale a été maintenue au bout de 10 min, avec une perte totale de la conscience.

➤ Pour le lot d'extrait éthanolique (50%) à la dose 500mg/kg, les animaux étant en état de catalepsie totale, au bout de 7min, sommeil et somnolence, mais et il garde toujours le réflexe de retournement (mis sur dos).

➤ *Interactions médicamenteuses*

Le thiopental à la dose 60mg/kg exerce son effet déprimeur central en 30 secondes maximum, il induit une hypnose et une anesthésie sans analgésie, l'anesthésie est induite rapidement de façon confortable pour le malade et sans aucune agitation. Contrairement à la chlorpromazine qui est neuroleptique utilisés pour leur effet tranquillisant majeur.

A l'issue de ces résultats on constate que les extraits de graines *d'Opuntia ficus-indica* sont des calmants et tranquillisants naturels.

f- L'Activité Hypo et Antihyper-glycémiant

L'administration de 2g de glucose entraîne une augmentation significative de la glycémie pour le lot témoin positif allant de 193 mg/100mL jusqu'à 322 mg/100 ml à la 90^{ème} minute, contrairement pour les deux autres témoins (témoins négatif et neutre), la glycémie des rats ne varie pas significativement ($p > 0,05$) pendant toute la durée de cette étude, dont elle est comprise dans l'intervalle [0,80 - 0,99 g/l] qui correspond une glycémie normale.

Pour la référence 10 mg de glibenclamide provoque dès la 30^{ème} minute une baisse considérable de la glycémie, avec 64 % par rapport au lot témoin, cette baisse est maximale avec une valeur de 86% à la 90^{ème} minute, et les rats sont en état d'hypoglycémie, Cette hypoglycémie est significative ($p < 0,001$).

➤ L'Administration de l'extrait aqueux *d'Opuntia ficus-indica* à la dose de (400 mg/kg) abaisse la glycémie avec 39 %, tandis que l'extrait éthanolique (50%) à la même dose sa réduction est de l'ordre de 6 % par rapport au témoin à la 30^{ème} minute, au bout d'une heure et demi les deux extraits entraînent une baisse significative de la glycémie, avec un pourcentage maximum 72% pour le l'extrait aqueux, et 62% pour l'extrait éthanolique (50%).

Tableau 44 : Activité des deux extraits aqueux et hydro-éthanolique de graines d’OFI et du Glibenclamide sur les animaux ayant reçu une surcharge de glucose.

LOTS	GLYCEMIE (g/l de sang)						
	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	
Témoin positif	1.93±0.08	2.57±0.09	3.22±0.11	1.45±0.07	1.19±0.06	0.88±0.12	
Témoin négatif	0.89 ± 0.06	0.98 ± 0.06	0.99± 0.12	0.97± 0.04	0.91± 0.02	0.92± 0,04	
Témoin neutre	0.83 ±0.049	0.85 ±0.046	0.81 ±0.05	0.82±0.049	0,80±0.049	0.81 ±0.05	
Glibenclamide	0.7±0.03	0.47±0.04	0.45±0.04	0.43±0.03	0.36±0.05	0.32±0.06	
	% réduction	64%	81%	86%	70%	63%	
Ext Aq		1.18±0.12	1.08±0.38	0.91±0.25	0.88±0.18	0.81±0.17	0.62±0.05
	% réduction	39%	58%	72%	55%	32%	30%
Ext Etoh 50%		1.80±0.70	1.44±0.056	1.22±0.01	0.81±0.02	0.68±0.48	0.67±0.46
	% réduction	6%	44%	62%	44%	43%	24%

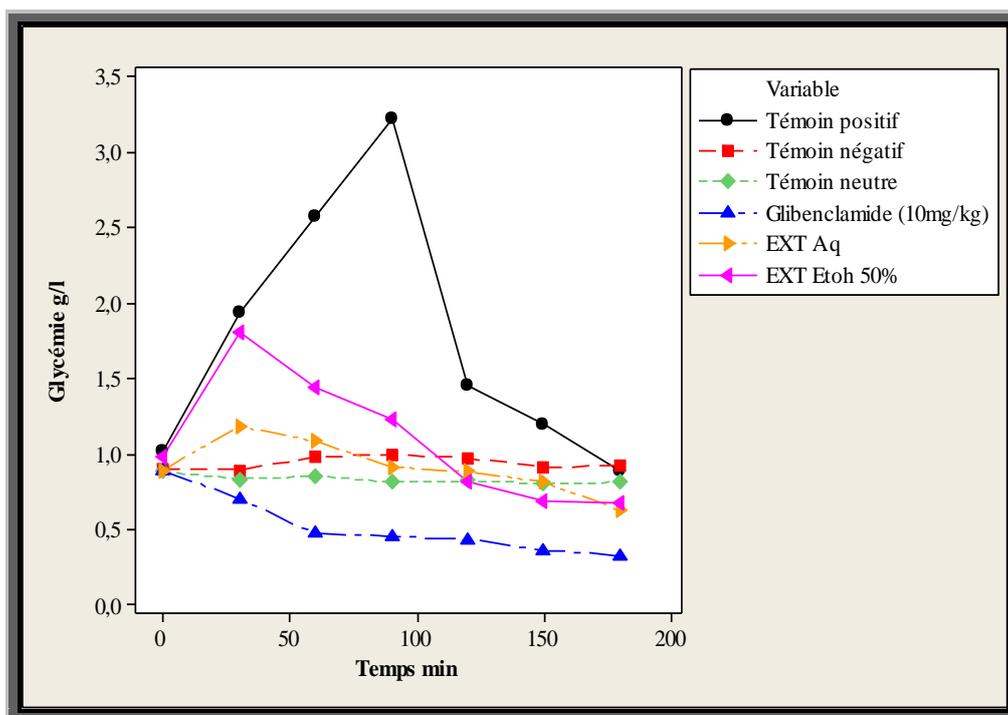


Figure 68 : Effets les extraits d’*Opuntia* et le Glibenclamide sur la glycémie.

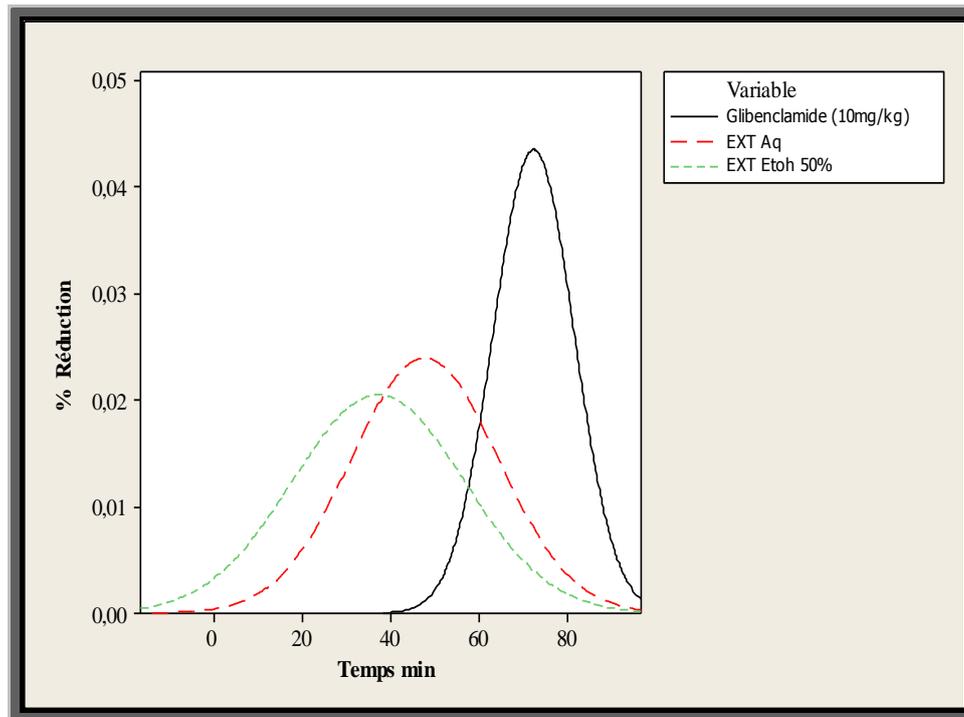


Figure 69 : Histogramme représentant le pourcentage de réduction de la glycémie.

On se basant sur ces résultats, l'étude in vivo de l'effet de l'administration du glucose par voie orale sur des rats normoglycémique, à la dose de 2 g/kg, entraîne une augmentation significative de la glycémie, dès la 30^{ème} minute, passant de 1.93 à 2.57 g/l.

Le pic glycémique ($3.22 \pm 0,11$ g/l) est atteint à la 90^{ème} minute, puis un retour à la glycémie initiale à la 180^{ème} minute. Dans les mêmes conditions expérimentales, lorsque les animaux sont prétraités une heure avant l'épreuve d'hyper-glycémie provoquée (HGPO), avec les extraits d'*Opuntia* (EAq et EEtoh 50%) à la même dose 400mg/kg l'hyperglycémie induite par le glucose est significativement réduite ($p < 0,01$), et le retour à la glycémie initiale est assez rapide par rapport à la référence dont il est remarqué à la 90^{ème} minute avec l'extrait Aq et à la 120^{ème} minute avec l'extrait Etoh 50%.

Ces deux extraits ont baissé significativement le taux de glucose sanguin, bien que l'extrait aqueux est plus efficace avec une baisse de 39% par rapport à 6% pour l'extrait hydro-éthanolique à la 30^{ème} minute. Tandis qu'à la 60^{ème} minute, les deux extraits provoquent une action presque identique une baisse de 58% pour l'extrait aqueux et 44% pour l'extrait hydro-alcoolique.

A la 90^{ème} minute, l'extrait aqueux provoque un maximum de réduction une baisse de 72 % assez importante par rapport à l'extrait hydro-éthanolique dont sa valeur correspond 62%. A la 120^{ème} minutes jusqu'à la fin de l'étude la baisse des deux extraits continuer à diminuer arrivant à 30% pour l'extrait aqueux et 24% pour l'extrait hydro-éthanolique.

Ces effets sont également observés avec le glibenclamide (**DAONIL®**) à 10 mg/kg, mais beaucoup plus rapide, dont son administration entraîne une réduction de la glycémie de 64 % à la 30^{ème} minute par rapport au témoin. Cette réduction est maximale et significative ($p < 0,001$) à la 90^{ème} minute avec une valeur de 86% cela veut dire que le glibenclamide agit sur l'organisme en état d'hyperglycémie à partir de la 30^{ème} minute.

➤ Pour les deux lots témoins neutre et négatif qui n'ont pas reçu la solution de glucose aucun changement n'a été observé chez les rats pendant toute la durée d'analyse, dont la glycémie du groupe témoin neutre est de l'ordre 0.80 g/l qui correspond une glycémie des rats normoglycémique, pareil pour le lot témoin négatif malgré qui est soumis au stress qui une situation permis au corps de réagir physiquement en sécrétant des hormones responsable d'un effet hyperglycémiant, hypoglycémiant, ou dans certains cas, ne pas affecter la glycémie qui correspond les résultats de ce lot et cela peut être expliqué que les animaux utilisé dans notre étude (rats mâles) sont plus résistant.

Nous pouvons donc dire que les deux extraits d'*Opuntia ficus-indica* à 400 mg/kg montrent l'effet hypoglycémiant de cette plante chez les rats dont l'extrait aqueux est plus efficace par rapport à l'extrait hydro-éthanolique mais son action n'est pas aussi prolongée que celle du glibenclamide, et cet effet antihyperglycémiant dû à la composition chimique des métabolites secondaires présentes au niveau des extraits, tels que les polyphénols et les flavonoïdes, qui sont quantifié pour les deux extraits aqueux et hydro-alcoolique dont il s'agit de :

($114.87 \pm 0,012$, et $144.5 \pm 0,011$ en mg d'GAE/100 g MS) pour les polyphénols, et de (30 ± 0.0031 , et 44 ± 0.0011 en mg QE/100 g MS) pour les flavonoïdes respectivement.

Du point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales, ils sont généralement reconnus comme ayant des effets hypoglycémiant. [253-254]

➤ D'après les données bibliographiques on constate qu'il y a une différence de l'effet anti-hyperglycémiant entre les extraits de graines, de jus, de l'huile, et de cladodes d'*Opuntia ficus-indica*, dont l'ingestion régulière du jus de fruit concentré de cactus à l'ordre de 3 ml par jour pendant 8 semaines a réduit le taux du sucre dans le sang, cette pulpe juteuse est une bonne source des antioxydants. [255]

Ainsi que l'administration par voie orale de l'huile des graines d'*Opuntia* à 0.8 ml /kg aux rats sains a empêché de manière significative ($p \leq 0.001$) l'hyperglycémie induit par une solution de glucose, dont sa valeur correspond (1.35 ± 0.14 g /l) à la 90^{ème} minute pour les rats traités par rapport à (2.27 ± 0.16 g /l) qui correspond effet anti-postprandial. Cet effet peut être expliqué par inhibition d'absorption intestinale du glucose. [256]

Pour les tiges de cet arbuste, La prise orale d'un extrait spécifique des cladodes d'*Opuntia ficus-indica*, et de la peau (les épiluches) ont le pouvoir de stimuler l'insuline afin de réduire le taux du glucose dans le sang. [257-258]

Les résultats obtenus au cours de ce travail ont pu montrer que les deux extraits à base de graines de fruit du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*. L) à 400 mg/kg ont des effets anti-hyperglycémiant, dont l'extrait aqueux est plus efficace par rapport à l'extrait hydro-éthanolique mais son action n'est pas aussi prolongée que celle de la référence, le glibenclamide (**DAONIL®**).

➤ D'un point de vue nutritionnel, il apparait également utile de souligner que cette plante joue double rôle, médicinale et alimentaire, dans le cadre de la prévention du diabète aussi bien au niveau des pays pauvres qu'industrialisés.

➤ Sa prescription chronique pour les diabétiques pourrait éviter les complications à long terme de cette pathologie. L'avantage de la préparation naturelle repose non seulement sur la possibilité de contrôler l'hyperglycémie, mais aussi sur son utilisation chronique sans effets indésirables à la dose efficace. Récemment les chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'effet thérapeutique du figuier de barbarie.

***CONCLUSION GENERALE
ET PERSPECTIVES***

Conclusion générale et perspectives :

Le figuier de barbarie « *l'Opuntia ficus-indica* » est une plante xérophyte de la famille des Cactacées, cette plante largement connue et pourtant méconnue a fait l'objet de plusieurs études dans le monde entier qui lui ont conféré plusieurs potentialités intéressantes dans plusieurs domaines, le fruit, son jus, et sa pulpe sont à l'origine d'une activité antioxydante, l'huile des graines possède une action diététique, les cladodes d'*Opuntia* pourraient constituer une excellente source de fibres pour le fourrage et l'alimentation humaine.

Cet arbuste est miraculeux rien ne se jette, tout est utile, la recherche scientifique moderne, s'intéresse par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, qui sont considérés comme de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit à cause de plusieurs pathologies apparaissent grâce à l'usage intensif des produits synthétiques.

En Algérie ce nopal est pratiquement délaissé pourtant cette source de richesse a une véritable valeur ajoutée qui peut constituer un créneau d'investissement à part entière. Malgré que plusieurs pays l'ont investi, tels que le Maroc, le premier exportateur de l'huile de pépins de figue de barbarie, ou encore la Tunisie ou l'Italie, ce choix n'est pas fortuit. Toutefois, réfléchir puis investir ne sont plus suffisants pour révolutionner le secteur agricole.

Nous avons commencé ces travaux avec l'établissement de plusieurs méthodes d'extraction d'huile, et des composés phénoliques, des résultats encourageants sont observés lors de l'application de ces extraits dans les différents tests biologiques *in vivo et in vitro*.

L'approche élaborée lors de ce travail s'est révélée parfaitement adaptée à nos objectifs et a permis l'identification, et la quantification de quelques molécules bioactifs ayant des effets antioxydant, anti-inflammatoire, antibactérien, hypoglycémiant, et hypnotique.

Nos résultats ont montré que la grande majorité des composé d'*Opuntia* est soluble dans l'eau, c'est-à-dire pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'utiliser des mélanges du solvant organique approprié avec de l'eau, comme l'éthanol, dont la macération avec ce dernier à 50%, et à température ambiante pendant 24 heures, est la technique parfaite pour extraire l'extrait d'hydro-éthanol (EEtoh 50%) qui combine à la fois un haut rendement, une teneur élevée en polyphénols, et une activité antioxydante importante.

Ces données ont suggéré que les graines du cactus "*Opuntia ficu-indica*" pourraient être une source potentielle de composés naturels bioactifs, et révèlent que les extraits polaires en particulier (hydro-alcooliques) de cette espèce constitue une mine d'or prometteuse à intérêts multiples, et des agents thérapeutiques pour la recherche de nouveaux principes actifs naturels.

En perspective il serait utile d'identifier, du point de vue scientifique, les molécules ou le groupe de molécules responsables des effets étudiés quoi que, du point de vue économique et pratique, l'application des extraits de graine est plus rentable.

Il serait aussi intéressant de compléter la valorisation de cette plante par l'étude des cladodes qui auraient des effets dermatologiques (curatifs et cosmétiques).

Références bibliographiques

- [1]. Koehn FE, Carter GT. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2005, 4 : 206-220.
- [2]. Ferrari J. Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des Thymelaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle: *Gnidia involucrata* Steud. Thèse de doctorat Université Lausanne, 2002, 242 pp.
- [3]. Guo C, Yang J, Li Y, Xu J, Jiang Y. Antioxydant activities of peel pulp, and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr. Res.*, 2003, 23 : 1719-1726.
- [4]. Aberkane M C. Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Université de Batna, 2006, 163 pp.
- [5]. Schweizer M. Docteur nopal le médecin du bon dieu. APB Edition, Paris, 1997, 81pp.
- [6]. Briha O. Potentialité thérapeutiques d'*Opuntia ficus-indica* au Maroc et Tunisie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohamed V Rabat. Maroc. 2012, 171 pp.
- [7]. Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Simons A. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide, 2009, version 4.
- [8]. Barbera G, Carimi F, Inglese P. Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *J. Hortic. Sci.*, 1992, 3: 307-312.
- [9]. Oumiloud S. Contribution à l'étude phytochimique des extraits des graines et de l'huile de figuier de barbarie de la région de Tlemcen. Mémoire de master : Biochimie appliquée. Université de Tlemcen, 2012.
- [10]. Bensalem H, Nefzaoui A, Bensalem L. Supplementation of *Acacia cyanophylla* Lindl foliage-based diets with barley or shrubs from arid areas (*Opuntia ficus-indica* f. *inermis*) and *Atriplex nummularia* L.) on growth and digestibility in lambs. *Animal Feed. Scienc. Techno.*, 2002, 96: 15- 30.
- [11]. Arba M, Le cactus, *Opuntia*, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. Symposium International «Agriculture durable en région Méditerranéenne (AGDUMED)», Rabat, Maroc, 14-16 mai 2009.
- [12]. Nefzaoui A, Bensalem H. Spineless cacti. **In:** Mulas M, Mulas G. Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short and Medium-Term Priority Environmental Action Programme (SMAP). Université des études de SASSAR., 2004, p.112.
- [13]. Mulas M, Mulas G. Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. (SMAP). Environmental Action Programme Université des études de SASSAR., 2004, 112 pp.
- [14]. Piédallu A. Le figuier de barbarie sans épines (*Opuntia ficus-indica* Miller var. *Inermis* Weber) en Algérie, 1990, 128-145 pp.
- [15]. Arba M, Elaich A, Sarti B, Belbahri LL, Boubekraoui A, Zemmouri A, Sbaa H. Valorisation du figuier de barbarie en élevage. *Bull. Mens. Inf. et de liaison du PNTTA.*, 2000, 68 : 1-4.
- [16]. Anaya-Perez MA. History of the use of *Opuntia* as forage in Mexico. In : Mondragon- Jacobo and S. Perez-Gonzalez (Eds), Cactus (*Opuntia* spp) as forage. *FAO plant production and protection*. 2001, p.169.
- [17]. Guzman U, Arias S, Dávila P. **In:** Reyes-Aguero JA, Aguirre JR, Valiente-Banuet A. Reproductive biology of *Opuntia* : A review. *Journal of Arid Environments*. 2006, p.549-589.

- [18]. Dubeux JR, Ferreira dos Santos MV, de Andrade Lira M, Cordeiro dos Santos D, Farias I, Lima LE, Ferreira RLC. Productivity of *Opuntia ficus-indica* under different N and P fertilization and plant population in north-east Brazil. *J.Arid.Envir.*, 2006, 67: 357- 372.
- [19]. Wallace RS, Gileson AC. Evolution and systematic. *Biology and Uses*, P.S.Nobel Ed, 1997,1-21 pp.
- [20]. Jacques Soulaire : Cactus et médecine. Edition Thiébaud, Paris, 1948,190 pp.
- [21]. Habibi Y. Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de Barbarie, les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modifications chimiques. Thèse de Doctorat. Université Joseph Fourier. Grenoble I, et Université Cadi Ayyad. Marrakech, 2004, 264 pp.
- [22]. Neffar S. 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. Annaba. 2012, 236 pp.
- [23]. Mohammed M, Stintzing F, Carle R. Evaluation of different methods for production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Inno. Food Scien. Emer. Tech*, 2006, 7: 275-287.
- [24]. De Kock, G.C. Crops in South Africa. **In**: Mulas M, Mulas G. Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Université des études de Sassari. Groupe de recherche sur la désertification. Short and Medium -Term Priority Environmental Action Program (SMAP)., 2004, p.112.
- [25]. Gibson AC, Nobel P. The Cactus primer. Harvard University Press Cambridge, Massachusetts, USA. 1986, 286 pp.
- [26]. Nobel P, Hartsock TL. 1983. Ecophysiology of yucca brevifolia .**In** : Mulas M, Mulas G.Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short and Medium-Term Priority Environmental Action Programme (SMAP). Université des études de SASSAR., 2004, p.112.
- [27]. Saenz C. Processing technologies: An alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes, *J. of Arid Envir.*, 2000, 46: 209-225.
- [28]. Espirad E. Introduction à la transformation industrielle des fruits ; 2002 : 160-161.
- [29]. Piga A .Cactus pear: A fruit of Nutraceutical and Functional Importance. *J.PACD*, 2004:9-22.
- [30]. Fernandez-Lopez JA, Castellar R, Obon JM, Alméla L. Screening and mass-spectral confirmation of betalains in cactus pear. *Chromotographia*, 2002, 56: 591-595.
- [31]. Castellar R, Obon JM, Alacid M, Fernandez-Lopez JA. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits, *J.Agric. Food chem.*, 2003, 51: 2772-2776.
- [32]. Inglese P, Barbera G, La Mantia T. Research strategies for the improvement of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit quality and production. *J.Arid. Envir.*, 1995, 29: 455-468.
- [33]. Monjauze A, Le Houerou HN. Le rôle des *Opuntia* dans l'Economie agricole Nord Africaine. **In**: Mulas M, Mulas G. Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short and Medium-Term Priority Environmental Action Programme (SMAP). Université des études de SASSAR., 2004, p.112
- [34]. Nefzaoui A, Ben Salem H. Opuntiae: A strategic fodder and efficient tool to combat desertification in the Wana region. Cactusnet FZAO *International Cooperation Network on Cactus Pear News Letter*, 2000, 2-24 pp.
- [35]. Le Houérou HN. Cacti (*Opuntia* spp.) as a fodder crop for marginal land in the Mediterranean Basin. *Acta Hort.*, 2002, 581:21-46.

- [36]. Russel CE, Felker P. The prickly pears (*Opuntia* spp, Cactaceae): A source of Human and Animal food in semiarid regions. *Economic botany.*, 1987, 41 :433-445.
- [37]. Nerd A, Karadi A, Mizhari Y. Salt tolerance of prickly pear cactus (*Opuntia ficus- indica*). *Plant soil.*,1991, 137 : 201-207.
- [38]. Sutton BC, Ting IP, Sutton R. Carbohydrate Metabolism of Cactus in a Desert Environment. *Plant. Physiol*, 1981, 68 : 784-787.
- [39]. Lamghari El Kossori R, Villaume C, El Boustani E, Sauvaire Y, Méjean L. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pear fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant. Foods. Hum.Nutr.*, 1998, 52 : 263-270.
- [40]. Nouveaux aliments pour les ruminants à base de fruits de cactus, ministère de l'agriculture et de la pêche maritime, royaume du Maroc, N°176 Mai, 2009.
- [41]. Palevitch D, Earon G, Levin I. Treatment of benign prostatic hypertrophy with *Opuntia ficus-indica* (L.). *Int. J. Comp. Alt. Med.*, 1994, 21:2-8.
- [42]. Helmuth GZ, Granata G. Insect Pests and Diseases. Dans *Cacti Biology and Uses* ; P.S. Nobel Ed, 1997, 235-254 pp.
- [43]. Arba M. Techniques de valorisation industrielle des figues de barbarie. **In** : Le cactus l'*Opuntia* à fruit comestible appelé communément figuier de barbarie. Acte de la deuxième journée nationale sur la culture du cactus. El Kalaa des Sragna. Maroc., 2000, p.8-14.
- [44]. Luque de Castro MD, Garcia-Ayuso LE. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analy. Chim. Act.*, 1998, 369 : 1-10.
- [45]. Wang L, Waller CL. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trend. Food. Scien.Techn.*, 2006, 17 : 300 - 312.
- [46]. Danielski L, Campos L MAS, Bresciani LFV, Hense H, Yunes R A, Ferreira SRS. Marigold (*Calendula officinalis* L.) oleoresin: Solubility in SC-CO₂ and composition profile. *Chem. Engin.Proce.*, 2006, 46 : 99–106.
- [47]. Bocevaska M, Sovova H. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from yarrow. *J. of Super. Fluids.*, 2007, 40 : 360–367.
- [48]. Rozzi NL, Phippen W, Simon JE, Singh RK. Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 2002, 35 : 319-324.
- [49]. Tony Clifford, *Fundamentals of Supercritical Fluids*; Oxford University Press, New York. 1989.
- [50]. Wang L, Waller CL. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends. Food. Scien.Techno.*, 2006,17 : 300-312.
- [51]. Association Française de Normalisation : AFNOR. Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuse, produits dérivés, 3^{ème} édition, Paris, 1984.
- [52]. Perrin JL, Manuel des Corps Gras, tome II, Ed. Tekhnique et documentation, Lavoisier, Paris, 1992, 787 pp.
- [53]. Mordret F. Etude de L'Insaponifiable de L'Huile de Tournesol, Thèse d'Université, Paris, 1971.
- [54]. Nia N. Suivi et comparaison des paramètres physico-chimiques de l'huile de soja raffinée chimiquement et enzymatiquement, produites par Cevital. Mémoire d'Ingénieur en Génie Biologie. Université Abderrahmane Mira, Béjaïa, 2008
- [55]. KADARI A. Etude exploratoire des acides gras polyinsaturés des aiguilles de Pin. Mémoire master, chimie bio-organique et thérapeutique. Université de Tlemcen, 2012.
- [56]. WOLF JP. Manuel d'analyse des corps gras, Ed. Azoulay, Paris, 1968.
- [57]. Guingnard JL. Abrégé de Phytochimie, Ed .Masson, Paris, 1985, 25-29 pp.

- [58]. Helme JP, Chirouze J. Les Acides Gras Polyinsaturés à Longue chaîne, Application en Cosmétologie, Association Française de Cosmétologie. Symposium Bordeaux, 1984, 107 pp.
- [59]. Cocallemen S, Farines M, Faill H, Soulier J, Morin O. Study of the seed oil of eggplant, *Solanum melongena* (L), Solanaceae. *Revue Française des Corps Gras*, 1988, 35, 3 :105-110.
- [60]. Olle M. Analyse des corps gras. Technique de l'Ingénieur. Paris, 1996, 3325 pp.
- [61]. Kuksis A. *Hand Book of Lipid Research: Fatty Acids and Glycerides*, Ed. Plénum Press, New York and London, 1978, 1, 1 pp.
- [62]. Paquot C, Mercier J, Mathieu A, Lefort D, Perron R. Méthodes Analytiques des Lipides Naturels, Ed. CNRS, paris, 1962.
- [63]. Audigie CL, Dupon G, Zonsgain F. Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2^{ème} Ed. Doin, Paris, 1995, 44 pp.
- [64]. De Maack F, Sablier M. Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Bases documentaires, Techniques d'analyse, 1994, 2614 pp.
- [65]. Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris 3 Ed, Tec & Doc, Paris, 1999.
- [66]. Desjobert JM, Bianchini A, Tommy P, Costa J, Bernardini A F. Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 1997, 25: 13-16.
- [67]. Paolini J. Caractérisation des huiles essentielles par cpg/ir, cpg/sm-(ie et ic) et rmn du carbone-13 de cistus albidus et de deux asteraceae endemiques de corse : *Eupatorium cannabinum* subsp. *Corsicum* et *Doronicum corsicum*. Thèse de doctorat. Université de Corse, 2005.
- [68]. Mordret F, Laurent AM. Application of gas-phase Chromatography on capillary glass column to the analysis of tocopherols, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1978 ,25 : 245-50.
- [69]. Capella P, Dezotti G, Ricca GS, Valentini AF, Jacini, G. Chromatography on silicic acid of the unsaponifiable matter of fats", *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, 1960, 37 : 564-567.
- [70]. Veris, Effet Bénéfique Potentiel des anti-oxydants dans l'infection par le virus Hiv et le Sida, Vitamin E. *Research Summary*, Düsseldorf, Août, 1995.
- [71]. Frenot M, Vierling E. Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant. Science des aliments. 2^{ème} Ed. Doin, 2001, 79-102 pp.
- [72]. Karleskind A. Manuel des corps gras, Edition Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 1992, 116-226 pp.
- [73]. Maamri S, Djireb F. Effet des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales sur la carboxylesterase. Mémoire d'Ingénieur en Biologie. Université Laghouat, 2005.
- [74]. Emmerie A, Engel C. Colorimetric détermination of tocopherol (vitamin E). Tome II. Adsorption experiments. *Rec. Trav. Chim.*, 1939, 58 : 283-289.
- [75]. Dubois M. The détermination of total tocopherols. Application to grape seed oil, *Technol. Agric.*, 1964, 13 : 67.
- [76]. Naudet M. Manuel des corps gras, Tome I. Ed : Technique et Documentation Lavoisier, Paris. 1992, 43-45 pp.
- [77]. Naît Said Nadia. Etude phytochimique des l'extraits chloroformiques des plantes *Pituranthos chlorantus* et *Marrubium vulgare*, Memoir de magister en chimie organique. Université de Batna, 2007, 85-86 pp.

- [78]. A.J.C. dans *Refining of Oils and Fats of Edible Purpose*, Ed. P.W. William Pergamon Press, Oxford, 1962.
- [79]. Farine M, Charrouf M, Soulier J, The sterols of argania spinosa seed oil, *Phyto.Chem.*, 1981,20 : 2038-39.
- [80]. Hugel MF, Vetter W, Audier H, Barbier M, Lederer E. Analysis of Pollen Stérols by Mass Spectrometry, *Phyt.chem.*, 1964, 3 : 7.
- [81]. Noda M, Tanaka M, Seto Y, Aiba T, Oku C. Occurrence of Cholestérol as Major Sterol Component in Leaf Surface Lipid. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, 1988, 23 : 439.
- [82]. Naudet N, Hautfenne A. Méthode Normalisée pour la Détermination des Stérols Totaux dans les Huiles Et Graisses. *Rev. Fr. Corps Gras.*, 1986, 33 : 167.
- [83]. Ramadan MF, Mörsel JT. Lipid profile of prickly pear pulp fractions. *Food.Agri.Env.*, 2003, 1: 66-70.
- [84]. Barreto MC, Lipid extraction and cholesterol quantification, *J. Chem. Educ.*, 2005, 82 : 103-104.
- [85]. Donald Mc, Martin F. Manuel sightand life sur les troubles dus à la carence en vitamine A (TCVA), 2002, 172 pp.
- [86]. Causse C. Les secrets de santé des antioxydants. *Edition Alpen s.a.m*, 2005, 95 pp.
- [87]. Abounda S. *Effet de la cuisson à eau et de la friture sur la teneur en β - carotène de deux variétés de Patates Douce (Ipomea batatas) des provinces du Littoral et du centre du Cameroun*. Mémoire de Maîtrise. Université de Douala Cameroun, 2005, 7-8 pp.
- [88]. Derbel S, Ghedira K. Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie.*, 2005,1 :28-34.
- [89]. Simpon KL, Tsou TC. *Biochemical methodology for the assessment of carotenoid*. International Vitamine A consultative group, Washington, 1987,45 p.
- [90]. Chalchat JC. Les plantes sources naturelles d'antioxydant, *In Rev. Ital. EPPOS.*, 1997,97 : 213 - 230.
- [91]. Bieng F. *Contribution a l'étude phytochimique des pulpes de Dioscorea Schimperiana*. Mémoire de Maîtrise. Université de Douala Cameroun, 2005, 8-11pp.
- [92]. Bruneton J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 2^{ème} Ed, Lavoisier, Paris, 1993, 211-213 pp.
- [93]. Laguerre M, López-Giraldo L J, Lecomte J, Pina M, Villeneuve P. Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. *OCL.*, 2007,14 : 278-292.
- [94]. Talcott ST, Howard LR. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *J.Agric. Food chemistry.*, 1999,47 : 2109-2115.
- [95]. Macheix JJ, Fleriet A, Christian A. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolite secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne, 2005.
- [96]. Maarouf A. *Dictionnaire botanique*. 2000, 129 pp.
- [97]. Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.*, 2004,1 : 3-6.
- [98]. Calabrese G. Valeur nutritionnelle des raisins de table. *Bultion de l'office internationale du vin.*, 2003, 862-864 pp.
- [99]. Urquiaga INES, Leighton FEDE. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.*, 2000,33: 55-64.

- [100]. Heller W, Forkmann G. Biosynthesis. In : JB Harborne, ed, The Flavonoids. Advances in Research Since 1980. Chapman and Hall Ltd, London. 1988, p. 399-425.
- [101]. Swain T. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, Goodwin, T.W. (Ed), 2^{ème} Ed, Academic Press, London. 1976, 1, 425 pp.
- [102]. Swain T. The Flavonoids, Harborne, J.B., Mabry, T.M., Mabry H. (Eds), Chapman and Hall, London. 1975, 1096-1129 pp.
- [103]. Harborne JB. The Flavonoids Advances in Research since 1980, Harborne, J.B. (Eds), Chapman and Hall, London. 1988.
- [104]. Gentiana, Des plantes pour mieux vieillir : Vieillir oui, mais en santé. 2002, 16-4 pp.
- [105]. Ghedira K. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.*, 2005, 4 :162-169.
- [106]. Havsteen BH .The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol.Therap.*, 2002,96 : 67-202.
- [107]. Chira K, Suh J-H, Saucier C, Teissédre PL. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie.*, 2008, 6 : 75-82.
- [108]. Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1999.
- [109]. Macheix JJ, Fleuriet A, Sarni-Manchado P. Les Polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Paris, 2006, 1-28 pp.
- [110]. Singleton VL, Ross JA, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic Phosphotungstic acid reagent, *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, 16 : 144-158.
- [111]. Lee KW, Young JK, Lee HJ, Chang YL. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 7292-7295.
- [112]. Bajorun T, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M J, Vasseur M, Cazin J, Cazin C, Pinkas M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.*, 1996, 46: 1086-1089.
- [113]. Scalbert A .Fruits et légumes, polyphénols et santé. Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, Centre de Recherche de Clermont- Ferrand. 2004.
- [114]. Visioli F, Romani A, Mulinacci N, Zarini S, Conte D, Vincieri F, Galli C, Antioxidants and other biological activities of olive mill waste waters. *J.Agric.Food Chem.*, 1999, 47 : 3397-3401.
- [115]. Sarni-Manchado P, Cheynier V. Les polyphénols en agroalimentaire, Ed Tec & Doc, Lavoisier-Paris, 2006.
- [116]. Hames BD, L'essentiel en biochimie, Ed BERTI. Paris. 2000.
- [117]. Wang J, Mazza G. Effect of Anthocyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW.264.7. Macrophages. *J.Agric.Food.Chem.*, 2002, 50 : 4183-4189.
- [118]. Redoyal LM, Beltram M, Saucedo R, Olmedo DA. Bioorganic and medicinal chemistry Letters. *Fitoterapia.*, 2005, 15: 4447-4450.
- [119]. Hatano T, Kusuda M, Inada K, Ogawa TO, Shiota S, Tsuchiya T, Yoshida T. Effects of tannins and related polyphenols on methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Phyt.chem.*, 2005, 66 : 2047-2055

- [120]. Bahorun T, Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice, 1996.
- [121]. Favier A. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique.*, 2003,17:501-512.
- [122]. Amstad P, Peskin A, Shah G, Mirault ME, Moret R, Zbinden I, Cerutti P. The balance between Cu-Zn-superoxide dismutase and catalase affects the sensitivity of mouse epidermal cells to oxidative stress. *Biochemistry.*, 1991, 30: 9305.
- [123]. Lisu W, Jui-Hung Y, Hsiao-Ling L, Ming-Jiuan W. Antioxidant Effect of Methanol Extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.).*J.Food. Drug Anal.*, 2003, 11: 60-66.
- [124]. BARLOW SM.toxicological aspects of antioxydants used as food addives. **In:** Food antioxydants, Hudson B.J.F.Ed, Elseveir. Amsterdam., 1990, p. 253-307.
- [125]. Li P, Anu H, Jari S, Teijo Y, Heikki V. TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. *Chem. Nutr.*, 1999, 10: 123-187.
- [126]. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agr. Food. Chem.*, 2005, 53:4290-4302.
- [127]. Sánchez-Moreno C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food .Sci .Technol. Int.*, 2002, 8:121-137.
- [128]. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarín. *J. Sci. Technol.*, 2004, 26: 211-219.
- [129]. Yildirim A, Mavi A, Kara A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L.extracts. *J. Agr. Food Chemistry.*, 2001,49 : Pp411-420.
- [130]. Gerber M, Corpet DE. Alimentation méditerranéenne et santé. *Med. Nut.*, 1997, 4: 143- 154.
- [131]. Renaud S, Lorgeril M, Delaye, J. cretan mediteranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am. J. Clin.Nutr.*, 1995, 61: 1360-1367.
- [132]. Zino SJM, harman SK, Skeaff CM. Fruit and vegetables consumption and antioxidant status of seventh- day adventists. *Nutr. Metab. Cardivasc. Dis.*, 1998, 8 : 297-304.
- [133]. Sharma Om P, Bhat TK. DPPH antioxidant assay revisited. *Food. Chem.*, 2009,113 : 1202-1205.
- [134]. Maataoui BS, Hmyene A, Hilali S. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*). *Leban. Scien. J.*, 2006, 7 : 3-8.
- [135]. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature.*, 1958, 181 : 1199-1200.
- [136]. Wei L, Yu-Jie F, Yuan-Gang Z, Mei-Hong T, Nan W, Xiao-Lei L, Su Z. Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from *Opuntia dillenii* Haw and its antioxidant activity. *Food. Chem.*, 2009, 114 : 334–339.
- [137]. Fernandez ML, Trejo A, McNamara DJ. Pectin isolated from Prickly pear (*Opuntia* sp) mWodifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *J. Nutr.*, 1990, 120: 1283-1290.
- [138]. Pimienta-Barrios E. Vegetable cactus (*Opuntia*). In Underutilized Crops: Pulses and Vegetables. Ed J. Williams. London.UK, 1993, 177-191 pp.
- [139]. Sreekanth D, Arunasree MK, Roy KR, Chandramohan Reddy T, Reddy GV, Reddanna P. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomed.*, 2007,14:739–746.

- [140]. Ennouri M, Evelyne B, Laurence M, Hammadi A. Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food.Chem.*, 2005, 93 : 431-437.
- [141]. Coskuner Y, Tekin A. Seed composition of prickly pear fruits. *J. Scien. Food.Agric.*, 2003, 83 :846-849.
- [142]. Harrar Ab N. Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Magister en Biochimie. Université Sétif, 2012, 95 pp.
- [143]. Somaie S, Kariminik A, Hasanabadi Z. Antimicrobial activity of methanol extract of *Opuntia stricta* F. *Intern.Rese. J. Appl. Bas. Scien.*, 2013,7 : 907-910.
- [144]. Al-sobarry MA. valorisation pharmacologique d'*Aloe perry baker* et *jatropha uncostata balf*, plantes endémiques du yémen : toxicité, potentiel anti-inflammatoire et analgésique. Thèses de doctorat. Fac. Med. pharmac. de rabat. Maroc, 2012, 214 pp.
- [145]. Park EH, Kahng JH, Lee SH, Shin KH. An anti inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia.*, 2001,72 :288-290
- [146]. Galati EM, Pergolizzi S, Miceli N, Monforte MT, Tripodo MM. Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cladodes. *J. Ethno.pharm.*, 2002, 83 :229-233.
- [147]. Galati EM, Monforte MT, Tripodo MM, Aquino A, Mondello MR. Antiulcer activity of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. *J. Ethno.pharm.*, 2001,76 :1-9.
- [148]. Lim KT. Inhibitory effect of glycoprotein isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten MAKINO on activities of allergy-mediators in compound 48/80-stimulated mast cells. *Cellular Immunology.*, 2010, 264:78-85.
- [149]. Zorgui L, Ayed-Boussema I, Ayed Y, Bacha H, Hassen W. The antigenotoxic activities of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes against the mycotoxin zearalenone in Balb/c mice: Prevention of micronuclei, chromosome aberrations and DNA fragmentation. *Food. Chem. Tox.*, 2009,47 :662-667.
- [150]. Gaumy JL, Bailly JD, Burgat V, Guerre P. Zéaralénone : propriétés et toxicité expérimentale, Groupe de Mycotoxicologie. *Rev. Méd. Vét.*, 2001, 152, 3 :219-234.
- [151]. Galati EM, Tripodo MM, Trovato A, Miceli N, Monforte MT. Biological effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter Note I: diuretic activity. *J Ethno.pharma.*, 2002,79 :17-21.
- [152]. Kaniyas GD, Loukis A, Philianos SM. Trace element pharmacognostical study on diuretic drugs by neutron activation analysis. *J. Rad. Analy. Chem.*, 1979, 54 :103-112.
- [153]. Aquino A. Tesi per il conseguimento del Dottorato di Ricerca in Farmacognosia (IX Ciclo). *Opuntia ficus-indica* Mill. Ricerche Farmacognostiche. Facolta di Farmacia. Universita di Messina, 1998.
- [154]. Tuzmen N, Candan N, Kaya E, Demiryas N. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell. Biochem. Funct.*, 2008, 26: 119–124.
- [155]. Higdon JV, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews. Food. Scien.Nutr.*, 2003, 43 : 89-143.
- [156]. Ncibi S, Ben Othman M, Akacha A, Krifi MN, Zourgui L. *Opuntia ficus-indica* extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food.Chem.Toxico.*, 2008, 46 :797-802.

- [157]. Kwak KP. Neuroprotective effects of the flavonoids isolated from *Opuntia ficus-indica* vat, saboten. Dongguk Univ. Medical Centet; Psychiatty, Gyungusi, Republic of Korea. Degenerative and neurological disorders. 2002, 5 pp.
- [158]. Hyang DG, Kwang HL, Hyoung JK, Eun HL, Jiyong L, Yun SS, Yong-Ha L, Changbae J, Yong SL, Jungsook C. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin,(1)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Brain.Resear.*, 2003, 965 :130-136.
- [159]. Jung-Hoon K, Shin-Mi P, Hyun-Joo H, Chang-Jong M, Tae-Kyun S, Jung-Mi K, Nam-Ho L, Hyoung-Chun K, Kyung-Jin J, Myung-Bok W. *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury in vitro and in vivo models of cerebral ischemia. *J.Ethno.pharmacol.*, 2006, 104 : 257-262.
- [160]. Igor AS, Gang X, Liliya NK, Robyn AK, Mark AJ, Mark TQ. Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Opuntia polyacantha*. *Inte.Immuno.pharmacol.*, 2008, 8 : 1455-1466.
- [161]. Schepetkin IA, Faulkner CL, Nelson-Overton LK, Wiley JA, Quinn MT. Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Juniperus scopolorum*. *Int Immuno.pharmacol.*, 2005, 5 :1783-99.
- [162]. Xie G, Schepetkin IA, Quinn MT. Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from *Tanacetum vulgare* L. *Int.Immuno.pharmacol.*, 2007, 7 :1639-1650.
- [163]. Xie G, Schepetkin IA, Siemsen DW, Kirpotina LN, Wiley JA. Fractionation and characterization of biologically-active polysaccharides from *Artemisia tripartita*. *Phytochem.*, 2008, 69 :1359-1371.
- [164]. Ramadan MF, Morsel JT. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica*).*Food.Chem.*, 2003, 82 : 339-345.
- [165]. Moghadasian MH, McManus BM, Godin DV, Rodrigues B, Frohlich JJ. Proatherogenic and antiatherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action. *Circulation.*, 1999, 13 :1733-1739.
- [166]. Heinemann T, Axtmann G, Von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1993, 23 : 827-831.
- [167]. Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1998, 52 : 334-343.
- [168]. Belhadj Slimen I, Najar T, Abderrabba M. *Opuntia ficus-indica* as a Source of Bioactive and Nutritional Phytochemicals. *J. Food. Nut .Sci.*, 2016, 4 : 162-169
- [169]. Moghadasian MH, Mc Manus BM, Pritchard PH, Frohlich JJ. Tall oil derived phytosterols reduce atherosclerosis in Apo-E-deficient mice. *Arterioscler. Throm. Vasc. Biol.*, 1997, 17 : 119-126.
- [170]. Kartal Ozer, Negis N, Aytan Y. Molecular mechanisms of cholesterol or homocysteine effect in the development of atherosclerosis:role of vitamin E. *Biofactors.*, 2003,19 : 63-70.
- [171]. Ennouri M, Hamadi F, Bourret E, Zeghal N, Attia H. Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus- indica*, Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Biores. Techn.*, 2006, 97 :1382-1386.
- [172]. Ennouri M, Hamadi F, Bourret E, Zeghal N, Attia H, Hammami M. Effects of diet supplementation with cactus pear seeds and oil on serum and liver lipid parameters in rats. *Food .Chem.*, 2007, 101 : 248-253.

- [173]. Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle S. Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. *J. Ethnopharmacol.*, 2007, 111 : 315-321.
- [174]. Jules Romains. Les Copains, Paris, 1913, 182 pp.
- [175]. Augusto TG, Genaro GO, Puebla-Pdrez AM, Huizar-Contreras MD, Munguia-Mazariegos Mdel R, Mejia-Arreguin S, Calva E. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 1996, 55 : 27- 33.
- [176]. Lutz TA, Estermann A, Haag S, Scharrer E. Depolarization of the liver cell membrane by metformin. *Biochem. Biophys. Acta (BBA). Biomembranes.*, 2001, 1513 :176-184.
- [177]. Ning Y, Mouming Z, Banghao Z, Bao Y, Chunhui C, Chun C, Yueming J. Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Innov. Food .Scienc.Emerg. Techn.*, 2008,9 : 570-574.
- [178]. Andrade-Cetto A, Wiedenfeld H. Anti-hyperglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lem. *J. Ethnopharmacol.*, 2011,133 : 940-943.
- [179]. Zhao LY, Lana QJ, Huang ZC, Ouyang LJ, Zeng FH. Antidiabetic effect of a newly identified component of *Opuntia dillenii* polysaccharides. *Phytom.*, 2011,18 : 661-668.
- [180]. Hahm SW, Park J, Son YS. *Opuntia humifusa* stems lower blood glucose and cholesterol levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr. Res.*, 2011, 31: 479-487.
- [181]. Laurent E. Eléments minéraux **In**: Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed Lavoisier. Paris .1991, 78-98 pp.
- [182]. Janin F, Schnitzer G. Plomb, Cadmium et Mercure dans l'alimentation : Evolution et Gestion du risque. Technique et documentation. Lavoisier. Paris. 1996, 205-216 pp.
- [183]. Pinta M. Spectrométrie d'absorption atomique. Applications A l'analyse chimique, Masson, 2^{ème} Ed, 1980, 696 pp.
- [184]. Bereau D. Huiles et fractions insaponifiables de huit espèces de palmiers amazoniens. Thèse Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse .France, 2001.
- [185]. Lion P H. Travaux pratiques de chimie organique, Ed Dunod, Paris, 1955.
- [186]. Association Française de Normalisation : AFNOR. Paris, 1978.NF T60-234.
- [187]. Sanogo R, Diallo D, Diarra S, Ekoumon C, Bougoudougou F. Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali. Medical*, 2006, 1:18-24.
- [188]. Biallo D, Sanogo, Yasambou H. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). *C. R. Chimie.*, 2004, 7: 1073-1080.
- [189]. Bougandoura N, Bendimerad N. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Natu. Techno.*, 2013, 9: 15 p.
- [190]. Nwaz H Shi J, Mittal GS, Kakuda Y .*Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. Separr. purif. Techno.*, 2006, 48 : 176-181.
- [191]. Guillaumin, Drouhin. Revue Française des coprs gras, 1962, 9 : 415 pp.
- [192]. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J.Agric. Food. Chem.*, 2001, 49: 4619-4626.

- [193]. Gomez-Caravaca AM, Gomez-Romero M, Arraez-Roman D, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2006, 41:1220-1234.
- [194]. Wollgast J, Anklam E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food. Res. Inter.*, 2000, 33: 423-447.
- [195]. Stalikas CD. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids Review. *J. Sep. Sci.*, 2007, 30: 3268-3295.
- [196]. Yost RW, Ettre LS, Conlon RD. Practical liquid chromatography. An introduction. Perkin-Elmer. Canada. Montreal. 1980, 255 pp.
- [197]. Abdel-Hameed ES, Nagaty MA, Salman MS, Bazaid SA. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food. Chem.*, 2014, 160: 31–38.
- [198]. Ponce AG, Fritz R, DEL Valle C, Roura SI. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-wissenschaftund. Techno.*, 2003, 36: 679-684.
- [199]. Winter, *et al.* Carrageenin-induced oedema in hind paws of rats as assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedin.soci .experim.biolo.med.*, 1962, 111:544-550
- [200]. Sy GY, Fall AD, Diatta W, Gueye M, Badji Bassène E, Faye B. Analgesic and anti-inflammatory activity of aqueous root extract of *Cassia sieberiana* D. C. (Caesalpiniaceae) *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 2009, 3:651-653.
- [201]. El Kossori LR, Villaume C, El Boustani E, Sauvaire Y, Méjean L. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant.Foods.human .nutr.*, 1998, 52 :263-270.
- [202]. El Mannoubi I, Barrek S, Skanji T, Casablanca H, Zarrouk H.Characterization of *Opuntia ficus-indica* seed oil from Tunisia. *Chem.Natu.Compo.*, 2009, 45: 616-620.
- [203]. El Mannoubi I, Barrek S, Skanji T, Zarrouk H. Etude de la composition de la fraction volatile des graines de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*). *J. Soc. Chim de Tunisie.*, 2008, 10 :61-67.
- [204]. Salvo F, Galati EM, Lo Curto S, Tripodo MM.Chemical characterization of *Opuntia ficus-indica* seed oil. ISHS Acta horticulturae (ISHS) 581_33: 283-289 : IV International congress of cactus pear cochinal, 31 August 2002.
- [205]. Hsia J, Heiss G, Ren H, Allison M, Dolan NC, Greenland P, Heckbert SR, Johnson K C, Manson JE, Sidney S, Trevisan M. Calcium/vitamin D supplementation and cardiovascular events. *Circulation.*, 2007,115 :846-854.
- [206]. Commission du codex alimentarius, propriétés chimiques et physique des huile végétales brutes. FAO/OMS. Rome, Italie, 1998, 153 pp.
- [207]. Olle M. Direction de la concurrence, de la consommation et de répression des fraudes interrégionales de Montpellier. Technique d'analyse TA4. 2002, 3325 pp.
- [208]. Soares IP, Rezende TF, Silva RC, Castro EVR, Fortes ICP, Multivariate Calibration by Variable Selection for Blends of Raw Soybean Oil/Biodiesel from Different Sources Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Spectra Data. *Energy Fuels.*, 2008, 22 : 2079-2083.
- [209]. Nabi MN, Hoque SM, Akhter MS. Karanja (*Pongamiapinnata*) biodiesel production in Bangladesh, characterization of karanja biodiesel and its effect on diesel emissions. *Fuel. Process.Technol.*, 2009, 90 :1080–1086.

- [210]. McLafferty FW. Mass spectrometric analysis, molecular rearrangement. *Anal.Chem.*, 1959, 31 : 82-87.
- [211]. Yeddes N, Chérif JK, Jrad A, Barth D, Trabelsi-Ayadi M. Supercritical SC-CO₂ and Soxhlet n-Hexane Extract of Tunisian *Opuntia ficus-indica* Seeds and Fatty Acids Analysis. *J. Lipids.*, 2012, ID 914693, 6 pages.
- [212]. Chougui N, Tamendjari A, Hmidj Wahiba, Hallal Salima, Barras A. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food.Chem.*, 2013, 139 :796-803.
- [213]. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food .Chem.*, 2003, 51 :7292-7295.
- [214]. Ciulei J. Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed. Ministry of Chemical Industry, Romania, 1982, 67 pp.
- [215]. Chougui N, Sahi Y, Belkacemi M. Comparative study between the different compartments of *Opuntia ficus-indica* L. Inside Food Symposium, Leuven, Belgium. 2013.
- [216]. Díaz-Medina EM, Rodríguez-Rodríguez EM, Díaz-Romero C. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food.Chem.*, 2007, 103: 38-45.
- [217]. Paola S, Mauro B, Manfredi B, Panerai AE. Effects of tramadol on immune responses and nociceptive thresholds in mice. *Pain.*, 1997, 72: 325-330.
- [218]. Chavez-Santoscoy RA, Gutierrez-Urbe JA, Serna-Saldívar SO. Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant.Foods.Hum.Nutr.*, 2009, 64:146-52.
- [219]. Moussa-Ayoub T, El-Samahy SK, Rohn S, Kroh LW. Flavonols, betacyanins content and antioxidant of cactus *Opuntia macrorhiza* fruits. *Food.Resea.Inter.*, 2011, 44: 2160-2174.
- [220]. Li HB, Wong CC, Cheng KW, Feng C. Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel- Wissenschaft. Techn.*, 2008, 41:385–390.
- [221]. Chung YC, Chang CT, Chao WW, Lin CF, Chou ST. Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *J. Agric.Food .Chem.*, 2002, 50 : 2454–2458.
- [222]. Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food.Chem.*, 2004, 84: 551–562.
- [223]. Siddhuraju P, Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) seed extracts. *Food.Chem.*, 2007, 101:10-19.
- [224]. De Pooter HL, Schamp N. Comparaison of the volatils composition of some *Calamintha satureja* species. **In** : Progress in essential oil research. Edition E-J. Brunk, Walter De Gruyter. Berlin. 1986, p.139-150.
- [225]. Četković GS, Čanadanović-Brunet J, Djilas SM, Tumbas VT, Markov SL, Četković DD. Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts. *Inter.J.Molec.Sci.*, 2007, 8:1013-1027.
- [226]. Galati EM, Mondello MR, Giuffrida D, Dugo G, Miceli N, Pergolizzi S, Taviano MF. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J.Agric.Food.Chem.*, 2003, 51:4903-8.

- [227]. Kouri G, Tsimogiannis D, Bardouki H, Oreopoulou V. Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Inno.Food.Sci.Emer.Techno.*, 2007, 8: 155-162.
- [228]. Bondet V, Williams WB, Berset C. Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *J.Lebensmittel-Wissenschaft.Techno.*, 1997,30 :609-615.
- [229]. Mariod AA, Ibrahim RM, Ismail M, Ismail N. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food. Chem.*, 2009, 116:306-312.
- [230]. Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, Martelli A, Stevigny C, Arlorio M. Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola Piemonte* PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food.Chem.*, 2010, 119:1647-1655.
- [231]. Turkmen N, Velioglu YS, Sari F, Polat G. Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules.*, 2007, 12: 484-496.
- [232]. Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies.*, 2008, 331: 372-379.
- [233]. Rasooli I, Fakoor MH, Yadegarinia D, Gachkar L, Allameh A, Rezaei MB. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Inter.J.Food.Microbiol.*, 2008, 122 :135-139.
- [234]. Bari MN, Zubair M, Rizwan K, Rasool N, Bukhari IH, Akram S, Bokhari TH, Shahid M, Hameed M, Viqar UA. Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. *J. Chem. Soc. Pak.*, 2012, 34: 990-995.
- [235]. Fazeli MR, Amin G, Ahmadian-Attari MM, Ashtiani H, Jamalifar H, Samadi N. Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food.Control.*, 2007, 18 :646-649.
- [236]. Askun T, Tumen G, Satil F, Ates M. In vitro activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. *Food.Chem.*, 2009, 16: 289-294.
- [237]. Brantner A, Males Z, Pepeljnjak S, Antolic A. Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill (Christ's thorn). *J. Ethnopharmacol.*, 1996, 52 :119-122.
- [238]. Cowan MM. Plants products as antimicrobial activity. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999, 564-582 pp.
- [239]. Durgesh D, Wasnik PM. In Vitro Antibacterial Activity of *Opuntia ficus-indica* L. (Prickly Pear) Against Multiple Drug Resistant (MDR) Bacteria Isolated From Clinical Samples. *World. J.Pharm. Pharmaceuti.Sci.*, 2016, 5 : 996-1006.
- [240]. Di rosa M. Biological properties of carrageenan. *J.Pharma.Pharmacol.*, 1972, 24: 89-102
- [241]. Amezouar F, Badri W, Hsaine M, Bourhim N. and Fougrach H. Évaluation des activités antioxydante et antiinflammatoire d'*Erica arborea* L. du Maroc. *Patho. Biol.*,2013, 6: 254-258.
- [242]. Reto M, Almeida C, Rocha J, Sepodes B. and Figueira M E. Green Tea (*Camellia sinensis*): Hypocholesterolemic Effects in Humans and Anti-Inflammatory Effects in Animal. *Pharmaco.Pharmac.*, 2014, 5: 1113-1118.

- [243]. Ait el cadi M, Makram S, Ansar M, Khabbal Y, Alaoui K, Cherrah Y. and Taoufik J. Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Annal.Pharmac.Fran.*, 2012 ,70 : 113-116.
- [244]. Park EH, Kahng JH, Lee SH, Shin KH. An anti-inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia.*, 2001,72 :288-90.
- [245]. Loro JF, Rio I, Perez-Santana L. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. *J.Ethnopharmacol.*, 1999, 67: 213-8.
- [246]. Ekoumou C. Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse Pharmacie. Université de Bamako. Mali. 2003.
- [247]. Elisabetsky E, Tânia AA, Albuquerque RR, Nunes DS, Cavalho A. Analgesic activity of *Psychoria colorata* (wild). *J. Ethnopharmacol.*, 1995, 48 :77-83.
- [248]. Vogel GH, Vogel WH. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities **In:** Drug discovery and evaluation.pharmacological assay. Berlin Heidelberg, Germany : Springer. 1997, pp. 360-418.
- [249]. Asongalem EA, Foyet H.S., Folefoc GN, Dimo T, Ngongang J, Kamtchouing P, Analgesic and anti-inflammatory activities of *Erigeron floribundus*. *J. Ethnopharmacol.*, 2004, 91: 301-308.
- [250]. Hirose K, Jyoama H, Kojima Y, Eigyi M, Hatakeyama H. Pharmacological properties of a new anti-inflammatory agent drug. *Neurosci. Res.*, 1984, 34: 280-286.
- [251]. Le Bars D, Gozarium M, Cadden SW. Evaluation de la douleur aiguë chez l'animal d'expérience. Ed. Sci Med. Elsevier, 2001, 347-365 pp.
- [252]. Malainine ME, Dufresne A, Dupeyre D, Mahrouz M, Vuong R, Vignon MR. Structure et morphologie des raquettes et des epines du figuier de barbarie. *Phys. Chem.News.*, 2001, 4: 126-130.
- [253]. Macheix JJ, Fleriet A, Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolite secondaire d'importance économique. Ed, Presses Polytechniques et universitaires romandes PPTUR, Lausanne, 2005, 192 pp.
- [254]. Mangambu MJ, Mushagalusa KF, Kadima NJ. Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo). *J. Appl. Biosci.*, 2014, 75:6211-6220.
- [255]. Abd El-Razek FH, El-Metwally EM, Shehab GMG. , Hassan AA, Gomaa AM .Effects of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice on oxidative stress in diabetic cataract rats. *Saudi. J.Health.Sci.*, 2012, 7 : 23-29
- [256]. Berraouan A, Ziyyat A, Mekhfi H, Legssyer A, Sindic M, Aziz M, Bnouham M. Evaluation of antidiabetic properties of cactus pear seed oil in rats. *J. Pharm.Biol.*, 2014,52 : 1286-1290.
- [257]. Deldicque L, Proeyen VK, Ramaekers M, Pischel I , Sievers H. Additive insulinogenic action of *Opuntia ficus-indica* cladode and fruit skin extract and leucine after exercise in healthy males. *J.Int.Soc.Sports.Nutri.*, 2013,10: 45.
- [258]. Van Proeyen K, Ramaekers M, Pischel I, Hespel P. *Opuntia ficus-indica* ingestion stimulates peripheral disposal of oral glucose before and after exercise in healthy men. *Int.J.Sport.Nutr. Exerc.Metab.*, 2012, 22: 284-291.

Résumé

L'*Opuntia ficus-indica* communément appelée « figuier de barbarie » est un cactus originaire d'Amérique centrale qui s'adapte bien aux climats arides et semi-arides comme celui de l'Algérie. Cet arbuste longtemps ignoré, suscite de plus en plus d'intérêt, ces dernières décennies différents partis de cette plante ont été étudiées (raquettes, fruits, fleurs) mais peu de travaux ont été consacrés aux graines, généralement délaissées alors qu'elles peuvent être valorisées entrant que sous-produits, c'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de recherche qui a pour objet d'établir la valeur nutritive, le pouvoir antioxydant de ces graines, l'identification de nouveaux principes actifs naturels, ainsi son rôle préventif contre les maladies associées au stress oxydatif. Dans la présente étude l'analyse chimique de la poudre sèche de pépins de figue de barbarie révèle un pourcentage d'humidité de 2.34%, 91.24% pour les cendres, 6.42% de matière grasse extraite par soxhlet, et une moyenne de 4.37% extraite par CO₂, la détermination de leurs compositions chimiques par les différentes méthodes d'analyses : CPG et GC-SM a permis de montrer la prédominance de l'acide linoléique (C18:2). La teneur en minéraux montre que la farine des graines d'*Opuntia* contient tous les éléments essentiels pour l'organisme dont le calcium est le composé major avec un taux de 72%, et une absence totale des éléments toxiques comme le cadmium, et le plomb. Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés dans les extraits polaires avec 31,5% le pourcentage le plus élevé représenté par l'extrait hydro-éthanolique qui correspond l'extrait le plus riche en composés phénoliques avec un taux de 144,5 mg GAE / 100 g MS, suivi de l'extrait aqueux 114,87 mg GAE / 100g MS. Tandis que le dosage des flavonoïdes révèle que l'EMeoh brut contient le taux le plus élevé avec 57 mg QR/g MS, alors que l'analyse par HPLC a démontré la prédominance des deux acides Chlorogénique et p-coumarique. L'activité du balayage radical, exprimée en fonction d'IC₅₀, est égale à 0,13 et 0,15 pour les deux extraits hydro-éthanolique et aqueux respectivement. D'autre part l'étude *in vivo* sur les rats *Sprague Dawley*, et les souris de la souche *Balb/c* a démontré que les deux extraits l'EAQ et l'EEToh 50% présentent les activités pharmacologiques suivantes : anti-inflammatoire, antalgique, hypnotique, catatonigène, et antihyper-glycémique.

Mots clés : *Opuntia ficus-indica*, huile, activité biologique *in vivo* et *in vitro*, l'EEToh 50%.

Abstract

Opuntia ficus-indica, commonly known as "prickly pear", is a cactus native to Central America that is well adapted to arid and semi-arid climates such as Algeria. This shrub for a long time ignored, arouses more and more interest, in recent decades different parties of this plant were studied (cladodes, fruits, flowers) but little works were devoted to the seeds, generally neglected, whereas they can be valued as by-products, it is in this context that our research work aims to establish the nutritive value, the antioxidant power of these seeds, the identification of new natural active ingredients, as well as its preventive role against diseases associated with oxidative stress. In the present study the chemical analysis of the dry powder of prickly pear shows a moisture percentage of 2.34%, 91.24% for the ash, 6.42% of the soxhlet extracted fat, and an average of 4.37% extracted by CO₂. The determination of their chemical compositions by the different methods of analysis: CPG and GC-SM showed the predominance of linoleic acid (C18: 2). The mineral content shows that *Opuntia* seeds contains all the essential elements for the body whose calcium is the major compound with a rate of 72%, and a total absence of toxic elements like cadmium, and lead. The best extraction yields are recorded in the polar extracts with 31.5% the highest percentage represented by the hydro-ethanolic extract which corresponds to the extract richest in phenolic compounds with a rate of 144.5 mg GAE / 100 g MS, followed by aqueous extract 114.87 mg GAE / 100 g MS. While the flavonoid assay reveals that the crude EMeoh contains the highest level with 57 mg QR / g MS, whereas HPLC analysis demonstrated the predominance of the two Chlorogenic and p-coumaric acids. The activity of the radical sweep, expressed as a function of IC₅₀, is equal to 0.13 and 0.15 for the two hydro-ethanolic and aqueous extracts, respectively. On the other hand, the *in vivo* study on *Sprague Dawley* rats and *Balb /c* mice demonstrated that the two EAQ and EEToh 50% extracts exhibit the following pharmacological activities: anti-inflammatory, analgesic, Hypnotic, catatonigenic, and antihyper-glycemic.

Key words: *Opuntia ficus-indica*, oil, biological activity *in vivo* and *in vitro*, EEToh 50%.

المخلص

أوبانتيا فيكوس-إنديكا المعروف باسم "التين الشوكي" هو صبار موطنه الأصلي أمريكا الوسطى، والتي يتأقلم جيدا مع المناخات الجافة والمناطق شبه القاحلة مثل الجزائر، هذه الشجيرة في تجاهل طويل، بدأت في جذب المزيد والمزيد من الاهتمام في العقود الأخيرة وقد تم دراسة مختلف الأطراف من هذا النبات (السيقان، الفواكه والزهور)، ولكن القليل من العمل قد خصص للبذور، ففي مهمة بشكل عام، إلا أنها يمكن أن تكون قيمتها واردة من قبل المنتج، وفي هذا السياق سجل بحثنا والذي يهدف إلى تحديد القيمة الغذائية، والقوة المضادة للأكسدة لهذه البذور، وتحديد المكونات الجديدة النشطة طبيعيا، وكذلك تحديد الدور الوقائي ضد الأمراض المرتبطة بالأكسدة. في هذه الدراسة التحليل الكيميائي للمسحوق الجاف للبذور يكشف أن محتوى الرطوبة 2.34٪، الرماد 91.24٪ والدهون 6.42٪ المستخرجة باستخدام سوكليت وبتوسط قدره 4.37٪ المستخرجة بواسطة CO₂، وتحديد التراكيب الكيميائية من خلال طرق مختلفة من التحليل GC-MS و GC يمكن أن تظهر غلبة حمض اللينوليك (C18: 2) كما يظهر المحتوى المعدني من بذور أوبانتيا على جميع العناصر الأساسية للجسم بما في ذلك الكالسيوم بمعدل 72٪، والغياب التام للعناصر السامة مثل الكاديوم والرصاص. وتسجل أفضل العوائد الاستخراج في المستخرجات القطبية مع 31.5٪ وهي أعلى نسبة ممثلة في المستخرج المائي- الإيثانولي وهو أغنى مستخرج من المركبات الفينولية بمعدل 144.5 ملغ 100/GAE MS، يليه المستخرج المائي 114.87 100/GAE MS بينما تركيز الفلافونويد تكشف أن مستخرج EMeoh يحتوي على أعلى نسبة مع 57 ملغ/MS في حين أظهر تحليل HPLC هيمنة كل من حمض الكلوروجينيك و ب. الكوماريك أما نشاط القضاء على الجذور، أعرب من حيث IC₅₀، يساوي 0.13 و 0.15 لكل من مستخلص المائي-الإيثانولي، والمائي على التوالي. من ناحية أخرى أثبتت الدراسة في الجسم الحي المجرأة على جردان *Sprague Dawley*، والفئران من سلالة *Balb/c* أن كل من المستخلص المائي-الإيثانول، والمائي لديهم الأنشطة العلاجية التالية: المضادة للالتهابات، مسكن، منوم، catatonigène، ومكافحة الإفراط السكري في الدم.

الكلمات المفتاحية: التين شوكي، زيت، والنشاط البيولوجي في الجسم الحي و في المختبر، مستخلص المائي-الإيثانولي (50% EEToh) .

