

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie des produits naturelle*

### THEME

---

**Étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques  
et saponines de trois variétés de Cactus**

**« *Opuntia ficus indica* »**

---

**Présenté par : AZZOUZ Fatna**

**BOUZIANE Khaoula**

**Devant le jury :**

**Président : YOUSFI Mohamed (Pr)**

**Rapporteur : BOUSSOUSSA Hadjer (MCB)**

**Co-Rapporteur : KHACHEBA IHCEN (MCA)**

**Examineur : BERRAMDANE Taïb (MAA)**

**Examinatrice : KRAZA LAMIA (MAA)**

**Année universitaire 2016/2017.**

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui c'est toujours sacrifie pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi « mon père ».*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, « maman » que j'adore.*

*A mon frère unique que j'aime beaucoup « ABDERRAHMANE ».*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés mes amies Surtout mon binôme « Fatna El-ghalia »*

*A toute la promotion des 2<sup>émé</sup> années master biochimie.*

*A mes amies : Khaledia , Aledja , Djihad , Maria, Anfel , Zahira , Karima et Zolikha*

*Et a toute ma famille*

**B-KHAOULA**

## **Dédicace**

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents, sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches, et surtout leur disponibilité.*

*A mes chers sœurs et mon frère, Nabila ,Maria, Abdelkader.*

*A ma chère amie Bouziane Khaoula pour sa gentillesse, sa tendresse, sa douceur, sa patience et son encouragement durant ces cinq ans et qui sans elles rien n'aurait été possible.*

*A mes oncles et mes chères tantes*

*A mes cousins et mes cousines Mohamed ,Khallile, Rachid, Hemida, Djellel ;Lina, Hafida ;Hbibba ;Rachida ;Aicha ;Zaineb;Saliha Rekia ;Hannene.*

*A mes collègues de promotion Master Biochimie appliquée surtout Sabrina Ferhat.*

***A. Fatna***

# Remerciement

*On remercie « الله » le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche s n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de mes dames « BOUSSOUSSA Hadjer», et « KHACHEBA Ifcen » enseignantes-chercheurs à l'université Ammar Teliidji de Laghouat .Nous leur remercions pour la qualité de leur encadrement exceptionnel, pour leur patience, leur rigueur et leur disponibilité tout en long de la préparation de ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements aux membres de jury pour avoir accepté d'évaluer notre travail.*

*Notre reconnaissance s'adresse également à nos professeurs pour tous ce qu'ils ont pu et/ou su nous inculqué durant ces cinq ans, pour leur générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académique et professionnelles.*

*Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidé et soutenu de près ou de loin.*

## Résumé

Dans le présent travail, nous avons étudié l'effet antioxydant d'une espèce de cactus (*Opuntia ficus indica*). Notre but, été d'évaluer l'activité antioxydant des extraits (phénoliques et saponines) de trois échantillons récoltés de trois régions différentes d'Algérie (Laghouat, Tizi-Ouzou et Zeralda).

La première partie de ce travail représente l'extraction et la quantification des composés phénoliques par la méthode de folin. D'après les résultats, les teneurs varient entre 1,07 mg EAG/g et 9,24 mg EAG/g. Cependant, les concentrations des flavonoïdes détectés en utilisant le chlorure d'aluminium ont varié de 0,38 mg EQ / g à 4,23 mg EQ / g.

En ce qui concerne la deuxième partie, nous avons étudié la propriété antioxydante de nos extraits par les deux tests chimiques DPPH et phosphomolybdate. Les résultats obtenus par le test anti-DPPH ont montré des valeurs d'IC<sub>50</sub> allant de 0,32 mg/ml jusqu'au 10,35 mg/ml et dont l'extrait phénolique d'acétate d'éthyle (Zeralda) s'est révélé le plus actif ce résultat a été également confirmé par le test phosphomolybdate où la valeur du paramètre VCEAC pour cet extrait s'est montré la plus importante.

**Mots-clés :** les composés phénoliques, les flavonoïdes, activité antioxydant, DPPH, phosphomolybdate, *Opuntia ficus indica*, *cactaceae*

## Abstract

In this work, we studied the antioxidant effect of the species *Opuntia ficus indica*. Our objective was to evaluate antioxidant activity of phenolics and saponins extracts from three samples harvested from three different regions of Algeria (Laghouat, Tizi-Ouzou and Zeralda).

The first part of this work represents the extraction and quantification of phenolic compounds by the folin method. According to the results, the contents vary between 1.07 mg EAG / g and 9.24 mg EAG / g. However, the concentrations of the flavonoids detected using aluminum chloride ranged from 0.38 mg EQ / g to 4.23 mg EQ / g.

As regards the second part, we studied the antioxidant properties of our extracts by the two chemical tests DPPH and phosphomolybdenum. The results obtained by the anti-DPPH test showed IC<sub>50</sub> values ranging from 0.32 mg / ml to 10.35 mg / ml and the phenolic extract of ethyl acetate (Zeralda) Is revealed the most active this result was also confirmed by the phosphomolybdenum test where the value of the VCEAC for this extract is the most important.

**Keywords:** phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, phosphomolybdenum , *Opuntia ficus indica*, *cactaceae*

## ملخص

قمنا بدراسة تأثير مضادات الأكسدة لنوع من أنواع الصبار (*Opuntia ficus indica*)، كان هدفنا هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات (الفينولات والصابونين) حيث تم جمعها من ثلاث مناطق مختلفة من الجزائر (الأغواط، تيزي وزو وزرادة).

يمثل الجزء الأول في هذا العمل استخراج وتقدير المركبات الفينولية بواسطة طريقة فولين. تم تسجيل نتائج تترواح ما بين 1,07 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك الى 9,24 مغ/غ مكافئ لحمض الغاليك في حين , تراوحت تركيزات مركبات الفلافونويد الكشف باستخدام كلوريد الألومنيوم من 0,38 مغ / غ مكافئ الكرسئين الى 4,23 مغ / غ مكافئ الكرسئين.

درسنا في الجزء الثاني خاصية مضادة الاكسدة لمستخلصاتنا باستخدام طريقتين DPPH و الفوسفوموليبيدات و قد أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق اختبار anti-DPPH أعطت قيم IC<sub>50</sub> تتراوح بين 0.32 ملغ / مل إلى 10.35 ملغ / مل كما انه تبين لنا ان مستخلص الفينولات لزرادة الأكثر نشاطا من بين كل المستخلصات وأكد لنا أيضا اختبار الفوسفوموليبيدات هذه النتيجة حيث كانت قيم VCEAC لهذا المستخلص ذات قيمة عظيمة .

**الكلمات المفتاحية:** المركبات الفينولية , فلافونويد , خاصية مضادة الاكسدة , فوسفوموليبيدات , DPPH, *Opuntia ficus indica*, *cactaceae*

# Table des matières

Dédicaces

Remerciements

Résumé.....	I
Liste des abréviations .....	II
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux .....	IV
Introduction.....	2
<b>I. Synthèse bibliographique.....</b>	<b>5</b>
I.1. Les métabolites secondaires .....	5
I.1.1. Les composés phénoliques .....	5
A) Définition.....	5
B) Effet biologique.....	5
I.1.2. Les flavonoïdes.....	6
A) Définition.....	6
B) Effet biologique.....	6
I.1.3. Les saponines.....	6
A) Définition.....	6
B) Effet biologique.....	7
I.2. Activité antioxydante.....	7
I.2.1. Définition d'un radical libre.....	7
I.2.2. Les antioxydants.....	8
I.2.2.1. Antioxydants endogènes.....	8
I.2.2.2. Antioxydants exogènes.....	8
<b>II. Matériels et méthodes .....</b>	<b>10</b>
II.1. Matériel végétal.....	10
II.1.1. Classification botanique.....	10
II.1.2. Description .....	10
II.1.3. La récolte et séchage du matériel végétal.....	11
II.1.4. Broyage .....	11
II.2. Extraction des métabolites secondaires.....	11
II.2.1. Extraction aqueuse (Tisanes).....	11
II.2.2. Extraction des composés phénoliques.....	11
A. Macération .....	11

# Table des matières

B. Evaporation de la phase alcoolique et dépigmentation.....	12
C. Purification.....	12
II.2.3. Extraction des saponines.....	12
A. Macération.....	12
B. Evaporation de la phase alcoolique et dépigmentation .....	12
C. Purification .....	12
II.3. Dosage des composés phénoliques.....	13
II.3.1. Dosage des phénols totaux.....	13
a) Principe de la méthode.....	13
b) Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	14
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	14
a) Principe de la méthode .....	14
b) Courbe d'étalonnage de la Quercetine.....	14
II.4. Évaluation de l'activité antioxydant.....	15
II.4.1. Test de DPPH.....	15
II.4.2. phosphomolybdate .....	16
<b>III. Résultats et discussions</b> .....	19
III.1. Rendement d'extraction en métabolites secondaires.....	19
III.2. Estimation quantitative des phénols totaux .....	21
III.3. Estimation quantitative des Flavonoïdes .....	24
III.4. Evaluation de l'activité antioxydant par le radical libre DPPH.....	28
III.5. Evaluation de l'activité antioxydant par phosphomolybdate.....	32
<b>Conclusion</b> .....	38
<b>Références bibliographiques</b> .....	40

## Liste des abréviations

<b>Abs</b>	Absorbance
<b>Ac-O-Et</b>	acétate d'éthyle
<b>AC-O-Eth sap(L)</b>	Extrait d'acétate d'éthyle des saponines de Laghouat
<b>AC-O-Eth sap(T)</b>	Extrait d'acétate d'éthyle des saponines de Tizi ouzoua
<b>AC-O-Eth sap(Z)</b>	Extrait d'acétate d'éthyle des saponines de Zeralda
<b>BuOH</b>	Butanol
<b>But sap(L)</b>	Extrait butanolique des saponines Laghouat
<b>But sap(T)</b>	Extrait butanolique des saponines de Tizi ouzou
<b>But sap(Z)</b>	Extrait butanolique des saponines de Zeralda
<b>CP(L)</b>	Extrait phénoliques de Laghouat
<b>CP(T)</b>	Extrait phénoliques de Tizi ouzou
<b>CP(Z)</b>	Extrait phénoliques de Zeralda
<b>DPPH</b>	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
<b>EAG</b>	équivalent en acide gallique
<b>EQ</b>	équivalent en quercetine.
<b>FA(L)</b>	Fraction aqueuse Laghouat
<b>FA(T)</b>	Fraction aqueuse de Tizi ouzou
<b>FA(Z)</b>	Fraction aqueuse Zeralda
<b>I%</b>	Pourcentage d'inhibition
<b>IC50</b>	Concentration en antioxydant capable de réduire 50% du radical libre
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>Ms</b>	Matière sèche
<b>PPM</b>	Phosphomolybdate
<b>R(%)</b>	Rendements
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficient de corrélation
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>VCEAC</b>	Vitamin C Equivalent Antioxydant Capacity
<b>Vit C</b>	Vitamine C

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> photo d' <i>Opuntia ficus indica</i>	10
<b>Figure 2 :</b> Réaction de test DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) en présence d'un antioxydant (Congo., 2012).	15
<b>Figure 3 :</b> Droite d'étalonnage de l'Acide gallique	22
<b>Figure 4 :</b> Comparaison de la teneur en polyphénols totaux de différents extraits d' <i>O.f.indica</i> .	23
<b>Figure 5 :</b> Droite d'étalonnage de la quercétine	25
<b>Figure 6 :</b> Comparaison de la teneur en flavonoïde de différents extraits d' <i>O.f.indica</i> .	26
<b>Figure 7 :</b> Variation de la concentration en phénols totaux en fonction de la teneur en flavonoïdes des différents extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i>	27
<b>Figure 8 :</b> courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de la vitamine C.	28
<b>Figure 9 :</b> Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations de différents extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	29
<b>Figure 10 :</b> Comparaison de l'activité anti-radicalaire de nos différents extraits et de l'acide ascorbique.	31
<b>Figure 11 :</b> Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique.	32
<b>Figure 12 :</b> les courbes représentent la variation de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits phénolique et aqueux d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	33
<b>Figure 13 :</b> les courbes représentent la variation de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits saponines d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	34
<b>Figure 14 :</b> Activité antioxydant des extraits.	35
<b>Figure 15 :</b> Corrélation entre les valeurs de VCEAC et des teneurs en flavonoïdes des extraits d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Données géographiques et climatiques des trois sites étudiés.	11
<b>Tableau 2 :</b> Rendements des extraits phénoliques et saponines des trois variétés de Cactus	19
<b>Tableau 3 :</b> Teneur en phénols totaux des extraits étudiés.	22
<b>Tableau 4 :</b> Teneur en flavonoïde des extraits étudiés.	25
<b>Tableau 5 :</b> valeurs d'IC <sub>50</sub> obtenus par les extraits des trois variétés d' <i>O.F. indica</i> et de la vitamine C par le test du DPPH.	30
<b>Tableau 6 :</b> valeurs de VCEAC des extraits étudiés.	35

# Introduction

Les plantes peuvent être considérées comme des bibliothèques de petites molécules de métabolites secondaires ; composés organiques avec une extrême diversité structurale qui, autrement, ne pourrait pas être disponibles dans un laboratoire de synthèse chimique (Koehn et Carter., 2005).

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie, parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignines, saponine, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun., 1997).

L'Afrique est l'un des continents dotés de la plus riche biodiversité dans le monde. Notre pays 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 (Aberkane., 2006).

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales connaît un intérêt considérable. En effet, actuellement environ 25-30% de tous les médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés de produits naturels (plantes, animaux, bactéries et champignons).(Murray *et al.* , 1991).

Le genre *Opuntia* est originaire du Mexique (Orwa *et al.*, 2009). Sa distribution géographique est très large: Mexique, Sicile, Chili, Brésil, Turquie, Corée, Argentine et Afrique du Nord .Il a été introduit d'abord en Espagne et plus tard au 16<sup>ème</sup> 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. 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).(Arba., 2009).

Dans certains pays tels que l'Italie, l'Espagne et le Mexique, la culture du cactus est pratiquée de façon intensive et moderne avec des programmes de recherche et 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 (Orwa *et al.*, 2009).

Le genre *Opuntia* est xérophyte. Il croit principalement dans les zones arides et semi-arides. Sa remarquable variabilité génétique lui procure une forte adaptabilité écologique, ce qui lui permet de vivre sous différentes conditions climatiques (Stintzing et Carle., 2004).

Le figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) est un remède naturel qui s'avère efficace pour lutter contre le cholestérol, le diabète du type II, l'adénome prostatique, Brulure, les ulcères gastro-duodénaux et même certains types de cancer dont il ralentirait leur progression (Boudechiche., 2012)

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 (Galati et al., 2003).

Dans cette optique, notre étude est consacrée pour faire de la lumière sur cette plante qui pousse dans différentes régions d'Algérie en étudiant leurs propriétés antioxydantes liées à leurs matières en composés phénoliques et flavonoïdes. Nous avons évalué l'activité antioxydante *in vitro* de trois variétés d'*Opuntia ficus indica* Algérienne.

Cette étude est une continuité de travail de Khobzi et Djellite, 2016 effectuée sur la même échantillon de cactus.

Notre travail sera réparti en trois chapitres :

- Le premier est consacré à une synthèse bibliographique sur les principaux métabolites secondaires et l'activité antioxydante, en particulier les composés phénoliques et leurs activités biologiques
- Le deuxième chapitre traite la procédure expérimentale menée où les détails des manipulations sont présentés : extraction, quantification des composés phénoliques, quantification des flavonoïdes ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante.
- La troisième présentera l'ensemble des résultats obtenus et discussions qui en découlent.
- En fin, nous terminons, par une conclusion générale et perspective de cette étude.

# Synthèse Bibliographique

## I.1. Les métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi eux, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Ali *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007).

### I. 1.1. Les composés phénoliques :

#### A) Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal étant trouvé dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (Hajnos et Sherma., 2011) ; allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper.,2010).

Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Visioli *et al.*,2000).

#### B) Effets biologiques

La nature et la fonction des composés phénoliques s'accumulant dans les plantes sont variables. Ils présentent des propriétés anti-microbiennes; ce sont des phytoalexines. Ces composés de défense regroupent différentes classes de composés tels que les isoflavonoïdes prénylés, les stilbènes, les coumarines, les flavonols ou encore les auronnes. D'autres composés ont des fonctions dans la signalisation comme l'acide salicylique, molécule signal dans les mécanismes de résistance. La blessure et l'attaque par des herbivores induisent la synthèse de l'acide chlorogénique ou d'esters phénoliques liés aux parois cellulaires, ces composés pouvant agir directement en tant que molécules de défense ou servir de précurseurs à la synthèse de la lignine, de la subérine et autres barrières polyphénoliques. Par ailleurs, la quantité d'anthocyanines augmente fortement après un stress au froid ou un stress nutritionnel (Hoffmann., 2003).

### I.1. 2. Les flavonoïdes

#### A) Définition

Les flavonoïdes, au sens strict, sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, largement répandus dans le règne végétal avec plus de 4000 composés ayant des propriétés pharmacologiques et la liste s'élargit constamment avec le développement de nouvelles techniques analytiques (Marouf., 2000). Les flavonoïdes furent leur apparition chez les mousses, chez les fougères et les conifères, leur variété structurale est encore faible, elle est maximale dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, grains, bois (Guignard., 2000).

#### B) Effets biologiques

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (Bruneton., 1999). Aussi s'ajoutent à leurs propriétés biologiques leurs capacités d'inhiber l'activité d'un bon nombre d'enzymes digestives comme l' $\alpha$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase, la pepsine, la trypsine et les lipases notamment par les flavonoïdes et leurs dérivés sucrés et le sujet a été largement étudié (Khacheba et al., 2014). Des composés d'origine naturelle largement distribués dans les plantes qui ont un potentiel hypoglycémiant et qui ont été décrits comme inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidase (Fontana et al., 2011) la lutéoline, la myricétine et la quercétine ont été des inhibiteurs puissants de l' $\alpha$ -amylase pancréatique porcine (Tadera., 2006).

### I.1.3. Les saponines

#### A) Définition

Les saponines sont un groupe important de glycosides, largement distribués dans les plantes supérieures. Elles sont considérées responsables de nombreuses propriétés pharmacologiques, constituent une importante classe de métabolites secondaires d'origine végétale et animale de masse moléculaire entre 600 à 2000 Daltons et de structure complexe ; Ce sont des molécules de forme hétérosidique complexes, appartenant aux terpènes cycliques (nom générique donné aux hydrocarbures saturés cycliques ou acycliques ayant pour motif de base le terpène) ou aux stéroïdes, se trouvant chez de nombreux végétaux (salsepareille, saponaire, quinoa, etc.) sous forme d'hétérosides (saponosides). (Sparg et al., 2004)

Ils se divisent en saponifères à génin triterpénique et stéroïdique. Les saponosides (saponines) doivent leur nom au fait que comme le savon, elles produisent de la mousse en contact avec l'eau (Bruneton., 1999).

### **B) Effets biologiques**

Les Saponines ont été recherchées comme des détergents comme le fut la Saponaire, qui a été largement employée pendant des siècles. Les saponines ont aussi été recherchées par l'industrie pharmaceutique parce qu'elles forment le point de départ de l'hémi-synthèse des médicaments stéroïdiens. Elles présentent plusieurs propriétés pharmacologiques et sont employées dans la phytothérapie et dans l'industrie cosmétique (Sparg *et al.*, 2004).

Elles formeraient les principaux constituants de plusieurs remèdes issus des plantes et elles sont considérées responsables de nombreuses propriétés pharmacologiques (Estrada *et al.*, 2000). Les saponines d'*Argania spinosa* ont une action analgésique périphérique équivalente à celle de l'acide acétylé salicylique (Amzal., 2010).

Les saponines ont la capacité de lyser les érythrocytes, cela a permis le développement d'essais hémolytiques pour détecter leur présence dans des médicaments ou dans les extraits de plantes (Amzal., 2010).

### **I.2. Activité antioxydante**

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinebert *et al.*, 2005).

#### **I.2.1. Définition d'un radical libre**

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (Dacosta., 2003).

### **I.2.2. Les antioxydants**

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

#### **I.2.2.1. Antioxydants endogènes**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avisar et al., 1989). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak ., 2003).

#### **I.2.2.2. Antioxydants exogènes**

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes, ...etc. sont considérées comme des antioxydants. Comme d'autres plantes, les algues contiennent divers substances minérales et organiques, bénéfiques à la santé humaine (Kuda et al., 2007). Il a été observé que la production des ROS dans les algues est stimulée par divers facteurs environnementaux citant l'intensité de la lumière, la concentration des métaux lourds, de sel, le rayonnement UV, etc

# Matériels et méthodes

## II.1. Matériel végétal

### II.1.1. Classification botanique (Mulas et al., 2004).

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Caryophyllidae*

Ordre : *Caryophyllales*.

Famille : *Cactaceae*.

Groupe : *Opuntiaeae*.

Genre : *Opuntia*.

Sous-genre : *Platyopuntia*

Espèces : *Opuntia ficus-indica*

Nom commun : Figuier de Barbarie



**Figure 1** : photo de l'espèce  
*Opuntia ficus indica*

### II.1.2. Description

Le figuier de Barbarie est une plante arborescente robuste de 3 à 5 m de haut, possède un tronc épais et ligneux 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 (Neffar., 2012).

### II.1.3. La récolte et séchage du matériel végétal

Les échantillons d'*Opuntia ficus indica* ont été collectés à partir de trois sites différents dans leurs reliefs et climat (tableau 1), à Zeralda wilaya de Tipaza, à Laghouat, Chef-lieu de la wilaya de Laghouat et à Tizi-Ouzou durant la saison d'automne dans des endroits propres et loin de toute influence de pollution. Après la récolte matérielle végétale est séché à l'ombre et à une température ambiante pendant quelques jours.

**Tableau 1 :** Données géographiques et climatiques des trois sites étudiés .source (<http://dateandtime.info> et <https://fr.climate-data.org>)

Sites de collecte	Zeralda	Tizi-Ouzou	Laghouat
Altitude par rapport au niveau de la mer (m)	30 m	206 m	764 m
Climat	Tempéré	Tempéré	Aride
Température moyenne (°C)	17.7	17.9	17,4

### II.1.4. Broyage

Après le séchage, les trois échantillons ont été réduits en poudre fine suite au broyage et au tamisage successif.

## II.2.Extraction des métabolites secondaires

### II.2.1.Extraction aqueuse (Tisanes)

Une quantité 2 g de la matière végétale de chaque poudre est macéré dans 40 ml d'eau distillée à 75°C pendant 20 minutes .Après filtration et évaporation à sec sous vide à une température de 55 °C, les résidus sont récupéré dans 10 ml d'eau distillée, puis conservés sous une température de 4°C jusqu' à leur analyse.

### II.2.2.Extraction des composés phénoliques

#### A. Macération

2g de la matière végétale de chaque poudre est macéré dans 50 ml d'un mélange hydro-alcoolique (méthanol/H<sub>2</sub>O) (80/20 : V/V) pendant 24heurs à l'obscurité et à température ambiante. Après filtration, le résidu est repris pour une deuxième macération avec le même volume et les même conditions, suite une deuxième filtration .Enfin, l'obtention d'un extrait hydro-alcoolique brut.

**B. Evaporation de la phase alcoolique et dépigmentation**

L'extrait brut hydro-alcoolique est évaporé sous pression réduite à 45°C, puis la phase aqueuse restante est lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'hexane, jusqu'à l'épuisement des pigments.

**C. Purification**

La phase aqueuse obtenue est ensuite lavée dans une ampoule à décanter plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle, jusqu'à épuisement. Enfin, l'obtention des fractions d'acétate d'éthyle contient les composés phénoliques polaires.

Les extraits organiques obtenus sont séchés avec sulfate de sodium anhydre puis évaporés à sec à pression réduite à 45°C. Finalement, les résidus secs sont repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction phénolique correctement purifiée et conservée au réfrigérateur jusqu'à leur analyse.

**II.2.3. Extraction des saponines****A. Macération**

Une quantité 2g de la matière végétale de chaque poudre est macérée dans 50 ml d'un mélange hydro-alcoolique (éthanol/H<sub>2</sub>O) (70/30 : V/V) pendant 24 heures à l'obscurité et à température ambiante. Après filtration, le résidu est repris pour une deuxième macération avec le même volume dans les mêmes conditions, suite à une deuxième filtration. Enfin, l'obtention d'un extrait hydro-alcoolique brut

**B. Evaporation de la phase alcoolique et dépigmentation**

L'extrait brut hydro-alcoolique est évaporé sous pression réduite à 45°C, puis la phase aqueuse restante est lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'hexane, jusqu'à l'épuisement des pigments

**C. Purification**

La phase aqueuse obtenue est lavée dans une ampoule à décanter plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle, jusqu'à épuisement. Après, elle est lavée plusieurs fois avec un même volume de butanol.

Enfin, l'obtention des fractions éthyliques et des fractions butanoliques contenant les saponines.

Les extraits organiques (extraits d'acétate d'éthyle et extraits de butanol) obtenus sont séchés avec sulfate de sodium anhydre puis évaporés à sec à pression réduite à 45°C. Les résidus sec sont repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction phénolique correctement purifiée et conservée au réfrigérateur jusqu'à leur analyse.

Rendement (%) est calculé en appliquant la formule suivante :

$$R\% = [(m_1 - m_0) / m] \times 100$$

$m_1$  : la masse de ballon et résidus (g).

$m_0$ : la masse de ballon vide (g).

$m$  : la masse de la poudre végétale (g)

## II.3. Dosage des composés phénoliques

### II.3.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu.

#### a) Principe de la méthode

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué par une méthode adaptée de singleton et Ross (en 1965) avec le réactif de folin-Ciocalteu. En milieu basique, le réactif de folin-Ciocalteu qui est formé d'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'échantillon. Les produits de réduction (oxydes métalliques) de couleur bleue, présentent un maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans l'échantillon. Dans cette méthode on a utilisé l'acide gallique comme étalon (Dendougui., 2010).

### b) Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (0,03-0,3mg/ml). On prend 100µl de chaque solution diluée ont été suivi de l'addition de 500µl du réactif de folin-Ciocalteu (diluée 20 fois). Après, l'ajoute 2 ml de carbonates de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4%) ont été ajoutées, puis maintenues dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

L'absorbance est mesuré par un spectrophotomètre UV Visible, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc préparé de la même manière sauf qu'il ne contient pas d'acide gallique (l'extrait phénolique). Les lectures de la densité optique à 760 nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par la même procédure, en effectuant des dilutions pour obtenir des absorbances comprise entre 0,1 et 1.

## II.3.2. Dosage des flavonoïdes

### a) Principe de la méthode

Le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 409nm. Les phénols sont estimés par une spectroscopie UV, dont quercetine est utilisé comme un standard à une longueur d'onde  $\lambda = 409$  nm (Chia-chi et *al.*, 2002).

### b) Courbe d'étalonnage de la Quercetine

La courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions de quercetine de différentes concentrations (0,01-0,06mg/ml). On prend 500µl de chaque solution diluée ont été suivi de l'addition de 500µl du chlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> (2%), puis maintenues dans l'obscurité pendant 20 minutes à température ambiante.

L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV Visible, à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc préparé de la même manière sauf qu'il ne contient pas la quercetine. Les lectures de la densité optique à 409 nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la quercetine.

L'analyse quantitative des flavonoïdes des extraits phénoliques a été réalisée par la même procédure, en effectuant des dilutions pour obtenir des absorbances comprise entre 0,1 et 1.

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

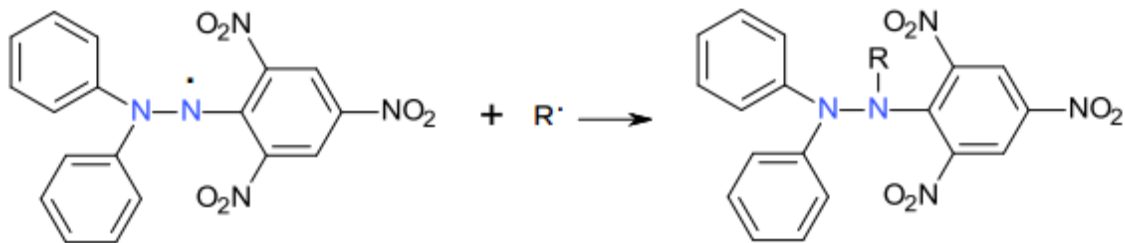
Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydant, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (Georgieva *et al.*, 2010).

Dans notre étude nous avons utilisé deux différents tests chimiques à savoir : le test DPPH et le test de phosphomolybdate.

### II.4.1. Test de DPPH

#### ➤ Principe

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphenyle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006).



**Figure 2 :** Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) en présence d'un antioxydant (Congo., 2012).

#### ➤ Mode opératoire

Nous avons prélevé 500 µl de chaque extrait dilué et nous avons l'additionnée à 500 µl d'une solution de DPPH° préparé dans l'éthanol. Parallèlement, un témoin est préparé en mélangeant 500µl de méthanol 500µl de la solution éthanoïque de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté

par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I \% = [(Abs\ témoin - Abs\ Échantillon) / Abs\ témoin] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs témoin : Absorbance du témoin. (Meddour *et al.*, 2013).

IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC<sub>50</sub> pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH

Les IC<sub>50</sub> sont calculés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards.

#### **II.4.2.phosphomolybdate**

##### **➤ Principe**

Le test du pouvoir réducteur du Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la réduction des molybdates en Molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par l'UV à une longueur d'onde de 695nm. Antioxydant totale capacité peut être calculé par la méthode décrite par Prieto *et al.*, 1999. (Nur., 2013).

### ➤ Mode opératoire

Pour le test de phosphomolybdate, 200 µl de chaque échantillon dilué est ajouté à 2 ml d'un réactif contenant (0,6 M) d'acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4mM de molybdate d'ammonium. Le tube est coiffé et incubé dans un bain marie à 90C° pendant 90 min, après refroidissement de l'échantillon à la température ambiante, l'absorbance de la solution aqueuse est mesurée à 695 nm contre blanc (200 µl eau distillé +2ml réactif) dans un spectrophotomètre UV. Nous utilisons l'acide ascorbique comme un standard et on les a traités dans les mêmes conditions opératoires.

L'activité antioxydante de nos extraits a été référée à celle de la vitamine C en termes d'équivalence.

$$\color{red}{\oplus} \text{ VCEAC (Vitamin C Equivalent Antioxydant Capacity)} = \alpha_{\text{extrait}} / \alpha_{\text{vitamine c}}$$

$\alpha_{\text{extrait}}$  = la pente de la courbe qui représente l'absorbance en fonction de concentration (extraits)

$\alpha_{\text{vitamine c}}$  = la pente de la courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

# Résultats et discussion

### III.1. Couleur et rendement d'extraction en métabolites secondaires

Les résultats des rendements d'extraction correspondant au pourcentage de principes actifs dissouts dans les différents solvants organiques utilisés par rapport à la masse de la matière végétale utilisée sont mentionnés dans le (Tableau 2) (Kemassi., 2014).

**Tableau 2 :** Couleur et rendements des extraits phénoliques et saponines des trois variétés de Cactus.

		<b>Région</b>	<b>couleur</b>	<b>R(%)(m/m)</b>
<b>Extraits saponines</b>	<b>AC-O-ETH</b>	Laghouat	Jaune claire	2
		Tizi-Ouzou	Marron	12
		Zéralda	Marron	4
	<b>ButOH</b>	Laghouat	marron	13
		Tizi-Ouzou	Jaune	2
		Zéralda	Jaune foncé	5
<b>Extrait phénoliques</b>	<b>AC-O-ETH</b>	Laghouat	Vert foncé	13
		Tizi-Ouzou	vert Claire	3
		Zéralda	Jaune- verdâtre	2
<b>Extraits aqueux</b>		Laghouat	Vert- jaunâtre	9,5
		Tizi-Ouzou	Jaune-verdâtre	19
		Zéralda	Marron	5,5

Au regard du tableau précédent, nous remarquons que tous les extraits ont montré différentes couleurs variant du vert jaunâtre au marron pour les extraits aqueux, tandis que les extraits organiques les couleurs ont varié du vert jaunâtre au jaune verdâtre.

Il nous a apparu que les rendements d'extractions calculés varient considérablement entre les variétés de Cactus collectées de différentes régions et en fonction de la procédure d'extraction suivie.

D'une manière générale, les teneurs en extraits saponines ont varié entre 2% et 12%. Pour la plante de cactus récoltée de la région de Laghouat et celle de la région de Zéralda on a constaté des rendements de 2 et 4% respectivement. Par contre, nous avons remarqué que l'espèce récoltée dans la région de Tizi-Ouzou a montré le plus haut rendement de 12%.

Pour les extraits phénoliques, un rendement de 13% a été enregistré pour l'échantillon de la région de Laghouat et de ce fait c'est la valeur la plus importante par rapport à l'échantillon récolté au niveau de Tizi-Ouzou (3%) et l'échantillon de Zéralda (2%).

Quant aux teneurs des extraits aqueux, les rendements en métabolites secondaire obtenus après l'extraction des plantes récoltées des régions de Zéralda et Laghouat sont de 5,5% et 9,5% respectivement, ces valeurs sont inférieures à celle notée dans la région de Tizi-Ouzou (19%).

Concernant les teneurs des extraits butanoliques, une valeur de 13% a été enregistrée dans la région de Laghouat, 5% pour la plante récoltée à Zéralda et 2% pour l'échantillon de Tizi-Ouzou.

Une étude réalisé par Benarous K, 2010 sur 11 plantes locales et spontanées a montré que les teneurs en polyphénols varient entre 1,46 et 5,20% et en saponines qui varient entre 0,16 et 9,21% sont plus élevée que celles de nos résultats, qui sont entre 0,81 et 2,94 % et de 3,11 et 5,95% en polyphénols et en saponines respectivement.

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 (Lee *et al.*, 2003)

Parmi les métabolites secondaires isolés des plantes, les alcaloïdes, les terpénoïdes, et les flavonoïdes. Ces composés et d'autres peuvent être obtenus par différentes procédures d'extraction dont de nombreux solvants organiques sont utilisés pour leur isolement à savoir l'éthanol, le méthanol, l'acétone, l'hexane, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le chloroforme,..... etc. Il est à noter également que l'emploi des solvants, varie en fonction du groupement chimique ciblé (Brunton, 1993).

La biosynthèse des métabolites secondaires chez les plantes, varie en fonction de l'espèce végétale considérée et au sein de la même espèce en fonction du stade de développement, l'écotype, la saison, la période de récolte, l'organe (feuille, tige, racine, etc.), et pour estimer la teneur d'une plante en métabolites secondaires quelconques le rendement d'extraction, est évalué. Il évolue sensiblement selon la procédure d'extraction utilisée (Lagunez., 2006).

### **III.2.Estimation quantitative des phénols totaux**

Le dosage des phénols totaux, en équivalent d'Acide gallique, des extraits des raquettes de trois variétés de l'espèce *Opuntia ficus indica* a été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu (Ben Laksira., 2013). Pour cela, une courbe d'étalonnage a été tracée avec différentes concentrations de l'acide gallique ; des mesures de la densité optique pour chaque extrait ont été réalisées à 750 nm. Les quantités de polyphénols correspondantes ont été rapportées en équivalent d'un milligramme d'acide gallique.

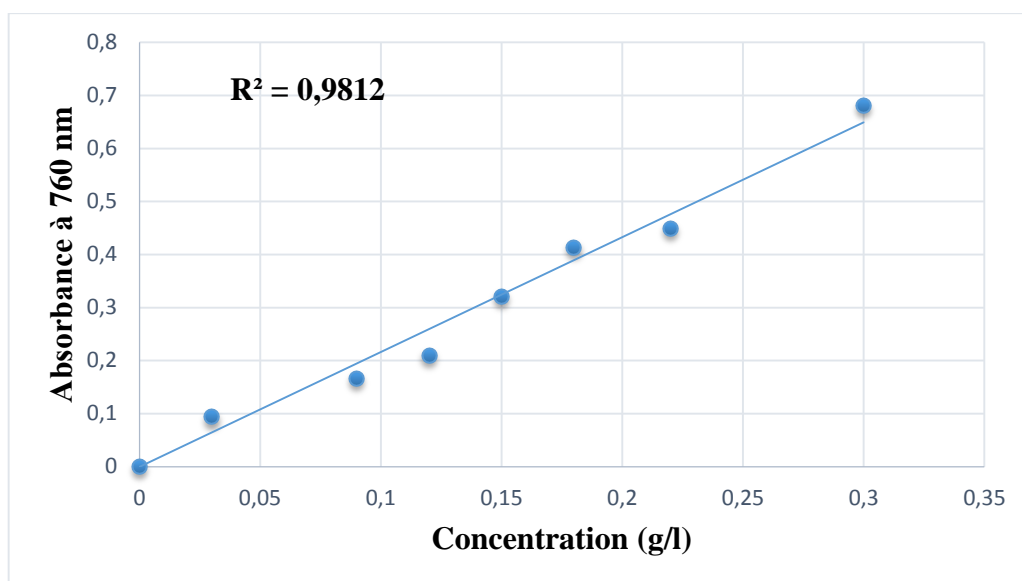


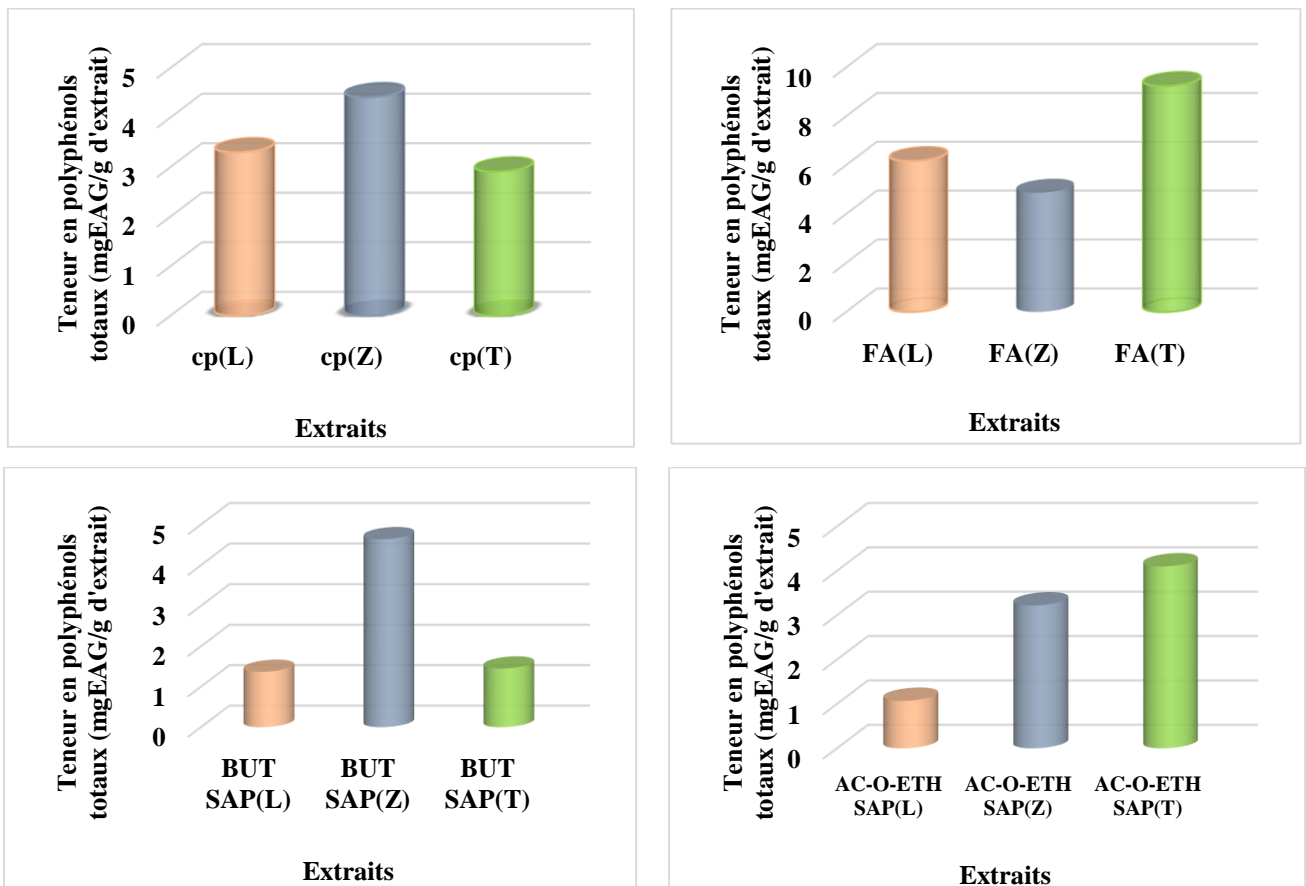
Figure 3 : Droite d'étalonnage de l'Acide gallique

Pour les douze extraits des trois échantillons de l'espèce *Opuntia ficus indica* nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Teneur en phénols totaux des extraits étudiés

Extrait Région	Phénolique	Saponines		Aqueux
	Teneur en phénols totaux : mg EAG / g	Teneur en phénols totaux : mg EAG/ g		Teneur en phénols totaux : mg EAG / g
	AC-O-ETH	AC-O-ETH	ButOH	
Laghouat	3,30 ± 0,19	1,07 ± 0,05	1,37 ± 0,03	6,17 ± 0,49
Zeralda	4,41 ± 0,22	3,22 ± 0,20	4,64 ± 0,42	4,87 ± 0,35
Tizi ouzou	2,91 ± 0,21	4,1 ± 0,21	1,45 ± 0,06	9,24 ± 1,05

Les résultats du dosage révèlent que les teneurs en phénols totaux varient de : 2,91 mg EAG/g à 4,41 mg EAG/g pour les extraits phénoliques, 4,87 mg EAG/g à 9,24 mg EAG/g pour les extraits aqueux, 1,07 mg EAG/g à 4,1 mg EAG/g pour les extraits d'acétate d'éthyle des saponines, et 1,37mg EAG/g à 4,64 mg EAG/g pour les extraits butanoliques de saponines.



**Figure 4 :** Comparaison de la teneur en polyphénols totaux de différents extraits d'*O.f.indica*

Ces résultats révèlent que les extraits aqueux sont les plus riches en composés phénoliques dont la meilleure valeur est enregistrée pour l'extrait de la région de Tizi-Ouzou, nous pouvons expliquer ces résultats par la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu qui représente l'inconvénient de ce dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupements hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines. (Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

Le solvant utilisé peuvent extraire des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui vont interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2007). Le dosage par ce réactif donne une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha *et al.*, 2007).

Les extraits phénoliques et saponines ont montré de faibles teneurs en phénols totaux. L'échantillon de Zeralda a enregistré les teneurs les plus élevées en phénols totaux:  $4,41 \pm 0,22$  mg EAG / g pour l'extrait phénoliques d'acétate d'éthyle,  $4,64 \pm 0,42$  mg EAG / g pour l'extrait butanolique des saponines, en revanche l'extrait d'acétate d'éthyle des saponines de Tizi ouzoua enregistré les teneurs les plus élevée en phénols totaux( $4,1 \pm 0,21$  mg EAG / g).

En comparant les valeurs de ces teneurs en composés phénoliques à celles des teneurs des extraits aqueux, nous remarquons qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits aqueux obtenus contiennent d'autres composés polaires à part les phénols tel que : les protéines, les sucre ...ct

Nos résultats du dosage des phénols ont montré des teneurs inférieurs à celles obtenues dans l'étude menée par Boutakiout., 2015 ; Halmi., 2014. Cette différence observée dans les différentes études peut s'expliquer par la provenance géographique, le cultivar, la variété et surtout le degré de maturité et la durée de stockage ce qui a été prouvé par les travaux de Hadj Sadok T *et al.*, (2013), réalisés sur les raquettes d'Opuntia proviennent de la région de Blida à différents stade de développement.

### **III.3.Estimation quantitative des Flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par Bahorun *et al.*, (1996). La quercetine considérée comme étalon nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits exprimée en mg équivalent de la quercetine (EQ) par gramme de la matière végétale. (Figure 5).

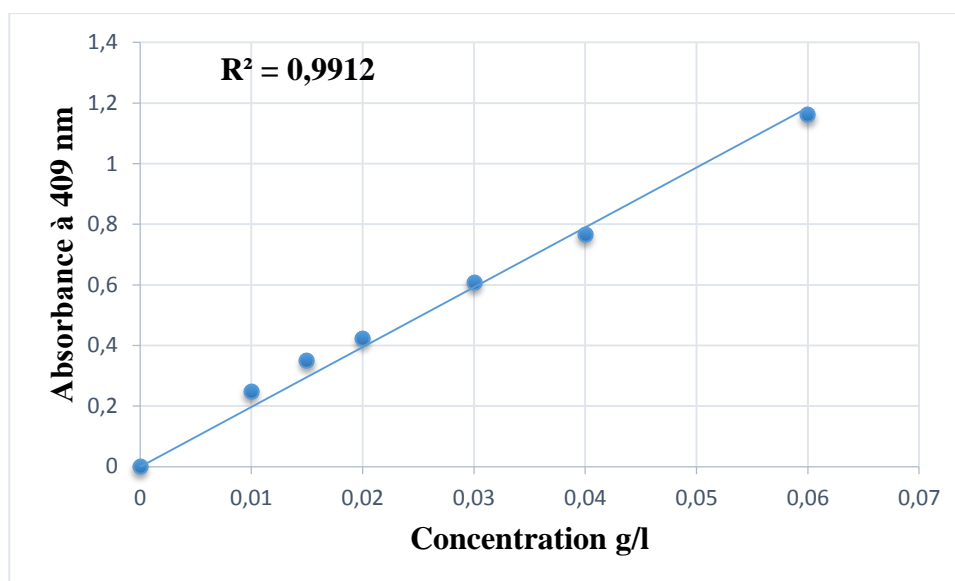


Figure 5: Droite d'étalonnage de la quercétine

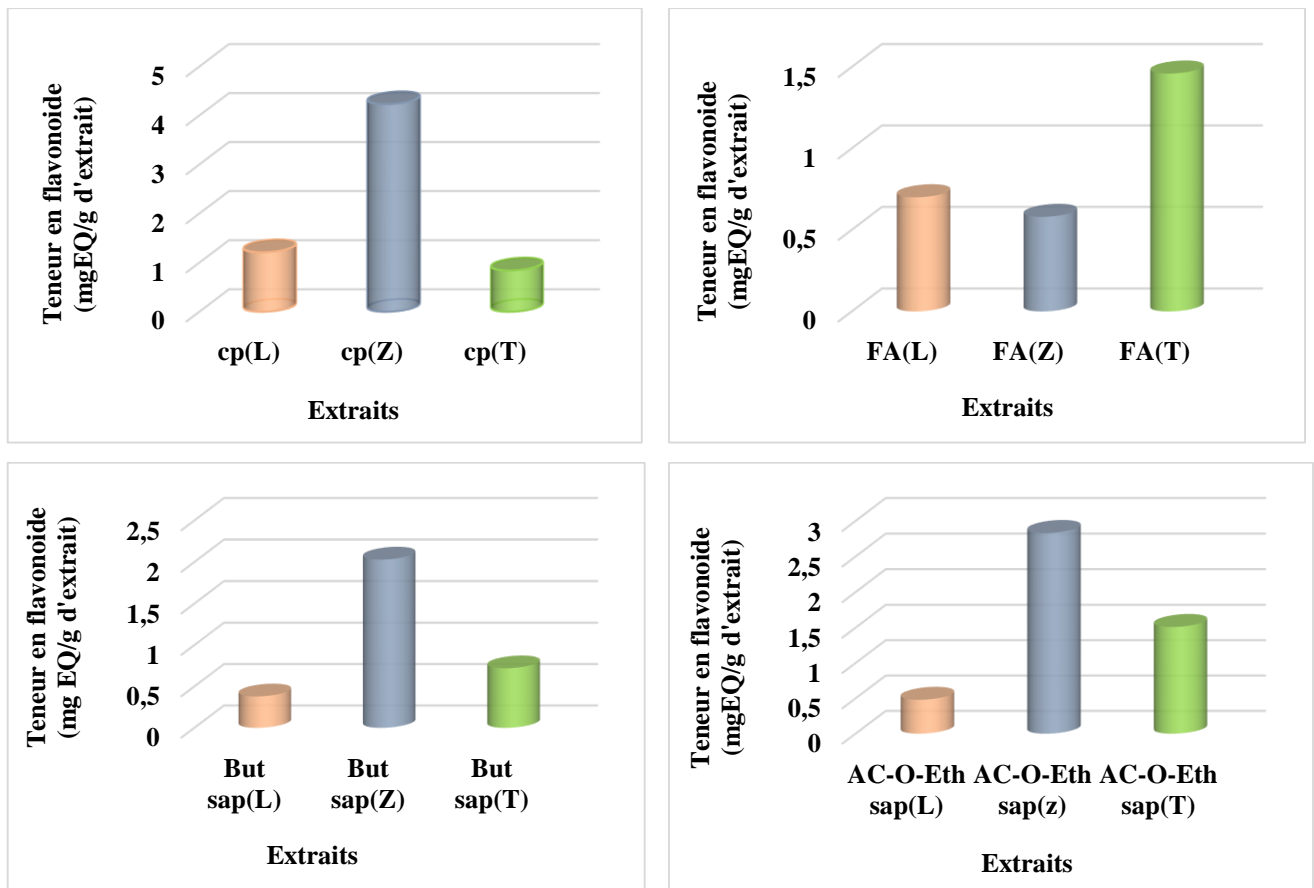
Les teneurs en flavonoïdes de différents extraits de raquettes d'*Opuntia ficus indica* étudiés sont illustrées dans la figure 6, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Teneur en flavonoïde des extraits étudiés

Extrait Région	Phénolique	Saponines		Aqueux
	Teneur en flavonoïde : mg EQ / g	Teneur en flavonoïde : mg EQ / g		Teneur en flavonoïde : mg EQ / g
	AC-O-ETH	AC-O-ETH	ButOH	
Laghouat	1,21 ± 0,08	0,48 ± 0,00	0,38 ± 0,00	0,70 ± 0,04
Zeralda	4,23 ± 0,55	2,83 ± 0,04	2,03 ± 0,12	0,58 ± 0,02
Tizi ousou	0,84 ± 0,01	1,51 ± 0,03	0,72 ± 0,00	1,46 ± 0,04

La raison principale pour laquelle nous avons choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénoliques la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

D'après la synthèse des résultats obtenus, nous constatons que l'échantillon de Zeralda a enregistré les teneurs en flavonoïdes les plus élevées pour les extraits phénoliques d'acétate d'éthyle, les extraits butanoliques des saponines et les extraits d'acétate d'éthyle des saponines. En revanche, les extraits aqueux de l'échantillon de Tizi-ouzou ont montré les meilleures teneurs.



**Figure 6:** Comparaison de la teneur en flavonoïde de différents extraits d'*O.f.indica*

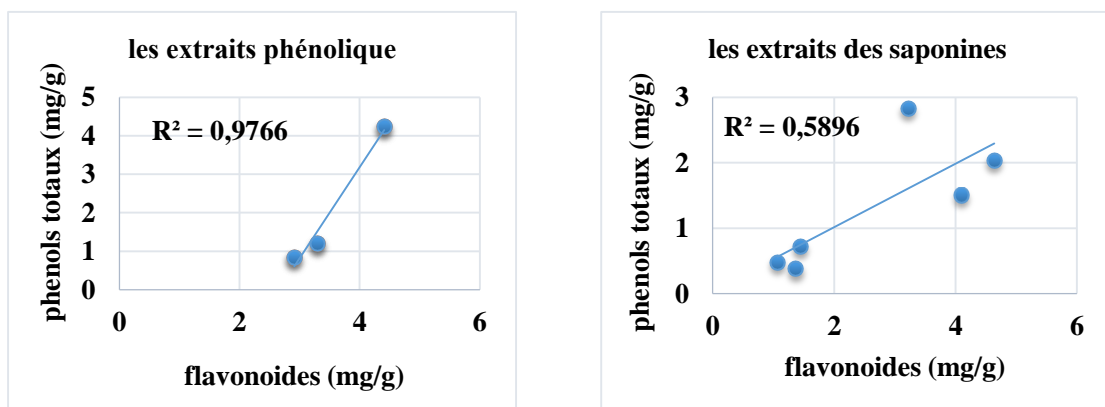
En comparant les teneurs en flavonoïdes à celles en composés phénoliques pour les deux types d'extractions et les trois variétés de Cactus, nous remarquons qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres classes de composés phénoliques.

Les teneurs en flavonoïdes rapportées dans les travaux de Chougui et *al.*, 2013, sur différents extraits phénolique d'*O.f.indica*, sont très élevées par rapport à nos résultats, cette différence trouve probablement son explication dans la différence du standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes.

De même les résultats trouvés dans les études de Hyun-II Jun et *al.*, en 2013 ont montré que la teneur des flavonoïdes dans les extraits d'acétate d'éthyle, butanol et aqueux d'*Opuntia humifusa* qui sont de l'ordre de  $89,7 \pm 3,7$  ;  $37,9 \pm 1,5$  et  $5,2 \pm 0,1$  mg EC/gMS respectivement. Ces teneurs apparaissent supérieures par rapport à nos résultats.

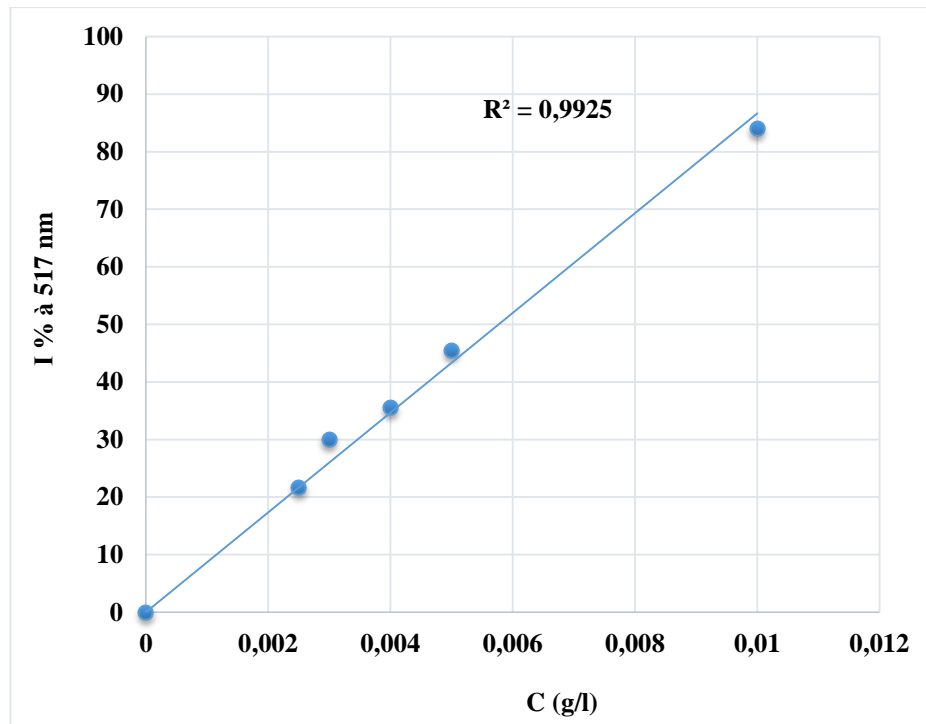
Ces résultats obtenus sont nettement supérieurs au résultat trouvé par Bari et *al.*,(2012) qui est de  $17,9 \pm 0,10$  et  $18,0 \pm 0,20$  mg EC/ 100g de MS pour les extraits d'Acétate d'éthyle et butanolique respectivement de raquettes d'*Opuntia Monacantha*.

À la lumière de ces résultats, nous remarquons une bonne corrélation positive entre les quantités des phénols totaux et le contenu flavonoïdique des différents extraits avec un coefficient de corrélation (R) 0,76 pour les extraits des saponines et 0,98 pour les extraits phénoliques, ce qui peut être traduit par la richesse de nos extraits en flavonoïdes qui constituent une importante proportion du contenu phénoliques (figure 7).



**Figure 7 :** Variation de la concentration en phénols totaux en fonction de la teneur en flavonoïdes des différents extraits d'*Opuntia ficus indica*

### III.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le radical libre DPPH



**Figure 8** : courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de la vitamine C

La mesure de l'absorbance (ou densité optique DO) 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 nous ont permis de tracer les courbes de la figure 9, qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de différents extraits de la plante. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition ( $IC_{50}$ ) pour chaque extrait (tableau 5 et figure 10).

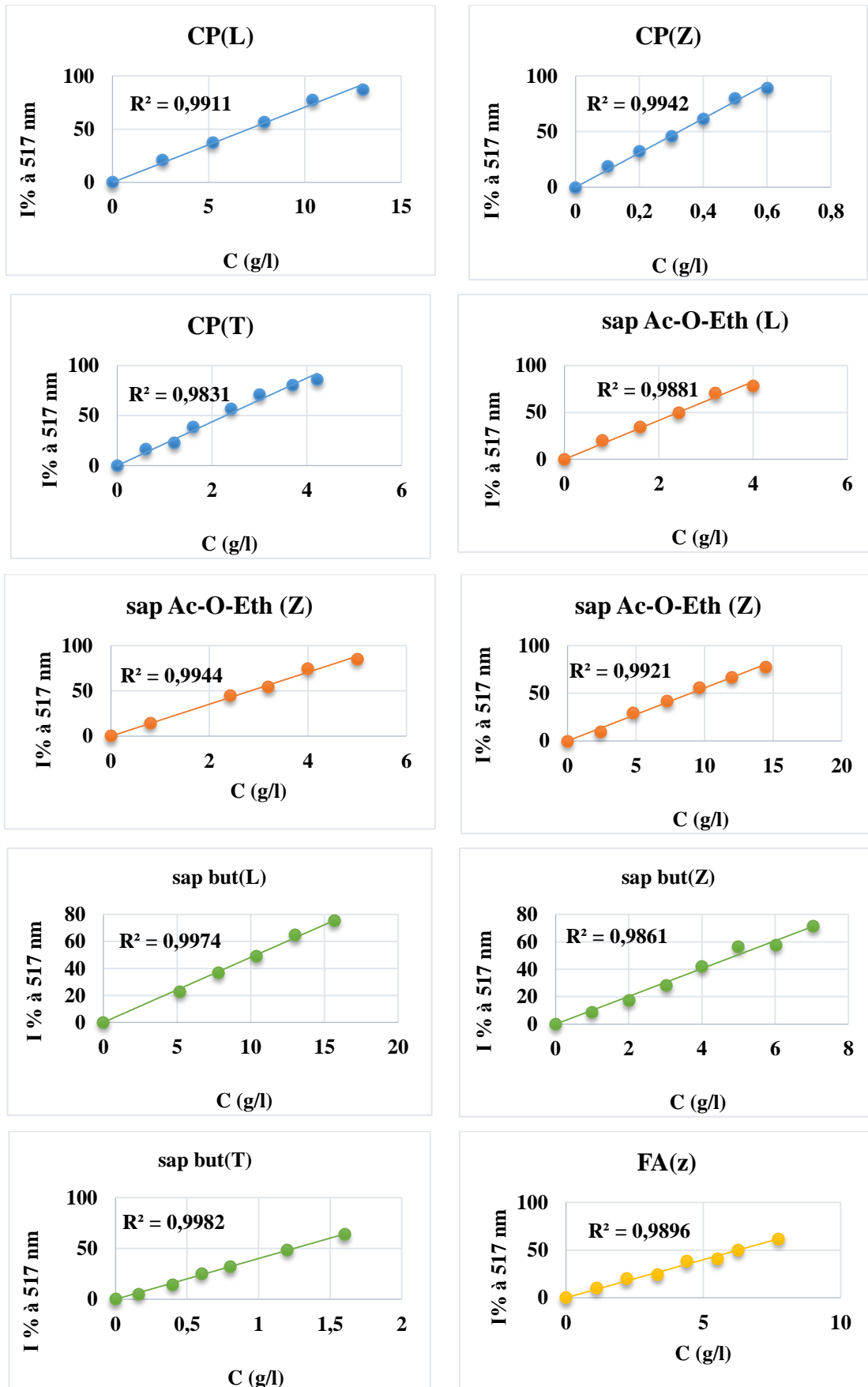


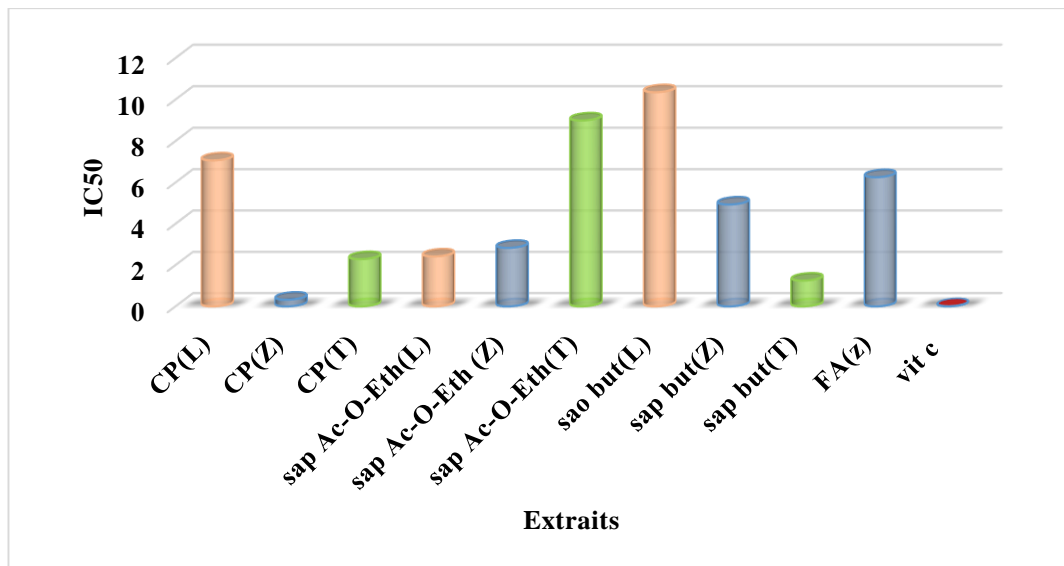
Figure 9 : Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations de différents extraits d'*Opuntia ficus indica*

Selon les résultats enregistrés dans le tableau 5, les extraits phénoliques de Zeralda et butanolique de Tizi-Ouzou sont dotés d'un pouvoir antioxydant important (figure 10), leurs IC<sub>50</sub> respectives sont : 0,32±0,00 et 1,24±0,04 mg/ml mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,005 ± 0,00 mg/ml. On démontre que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, flavonoïdes et les polyphénols réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Pooter et *al.*, 1986).

**Tableau 5** : valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenus par les extraits des trois variétés d'*O.F. indica* et de la vitamine C par le test du DPPH

Extraits	Régions	DPPH (IC <sub>50</sub> )(mg/ml)	
Phénoliques	Laghouat	7,06±0,09	
	Zeralda	0,32±0,00	
	Tizi ouzou	2,28 ±0,00	
Saponines	ButOH	Laghouat	10,35±0,27
		Zeralda	4,93±0,20
		Tizi ouzou	1,24±0,04
	Ac-O-Eth	Laghouat	2,41±0,03
		Zeralda	2,83±0,08
		Tizi ouzou	8,99±0,07
Aqueux	Zeralda	6,25±0,41	
Standards	Ac .ascorbique	0,005±0,00	

Les polyphénols contenus dans les extraits d'*O.f.indica* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. Cela est en accord avec les travaux menés sur les extraits de *S. montana* qui appartient à la famille *Mantidae* espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydante et antimicrobienne (Ćetković et *al.*, 2007).



**Figure 10 :** Comparaison de l'activité anti-radicalaire de nos différents extraits et de l'acide ascorbique

Comparativement à d'autres études, nos résultats concordent avec ceux obtenus par Bari *et al* en 2012 sur les extraits de raquettes d'*Opuntia Monacantha* où les pourcentages d'inhibition vis-à-vis du radical DPPH sont supérieurs chez les fractions riches en polyphénols et flavonoïdes, comme c'est le cas de l'extrait phénoliques d'acétate d'éthyle de Zeralda et l'extrait butanolique des saponines de Tizi-Ouzou.

Des études ont montré que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (Mariod *et al.*, 2009 ; Locatelli *et al.*, 2010).

D'après nos études on a trouvé que les extraits aqueux de Laghouat et Tizi-Ouzou possèdent une activité anti-radicalaire faible.

De même, une faible corrélation a été trouvée entre la teneur des phénols totaux et l'activité antioxydante vis-à-vis du DPPH(IC<sub>50</sub>).

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

L'analyse de Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la possibilité et la puissance des antioxydants non enzymatique (Nur., 2013).

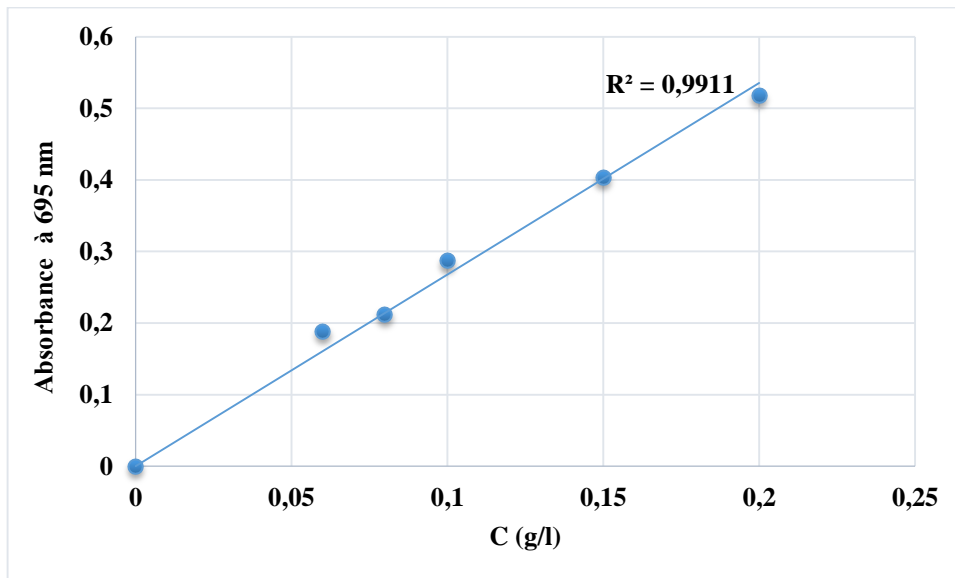
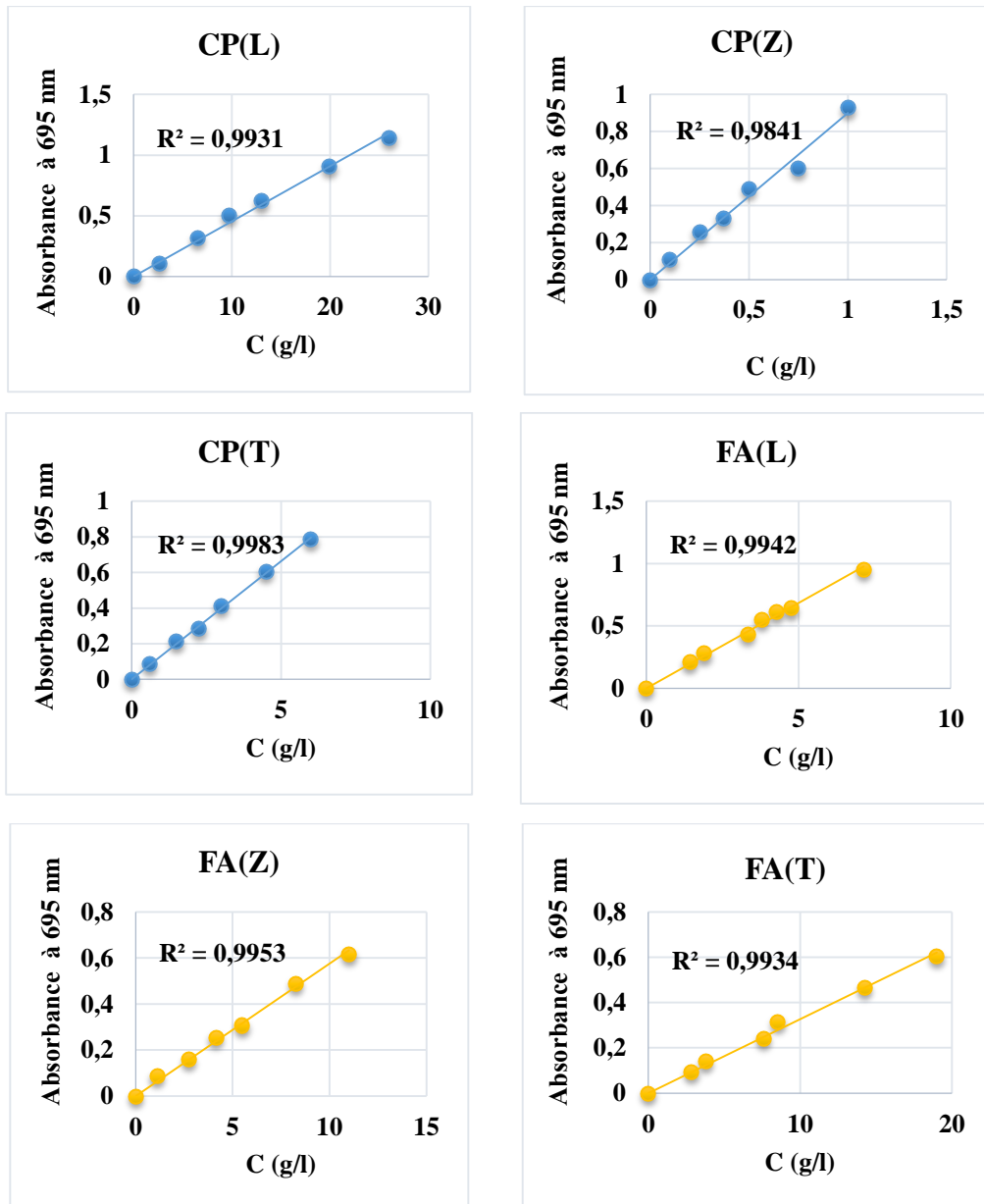


Figure 11: Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique

Les résultats obtenus nous ont permis de tracer les courbes (figure 12 et 13) de l'absorbance en fonction de la concentration. À partir des valeurs obtenues, nous avons calculé le paramètre VCEAC (Vitamin C Equivalent Antioxydant Capacity), la vitamine C a été utilisée comme standard (figure 11).



**Figure 12 :** les courbes représentent la variation de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits phénolique et aqueux d'*Opuntia ficus indica*

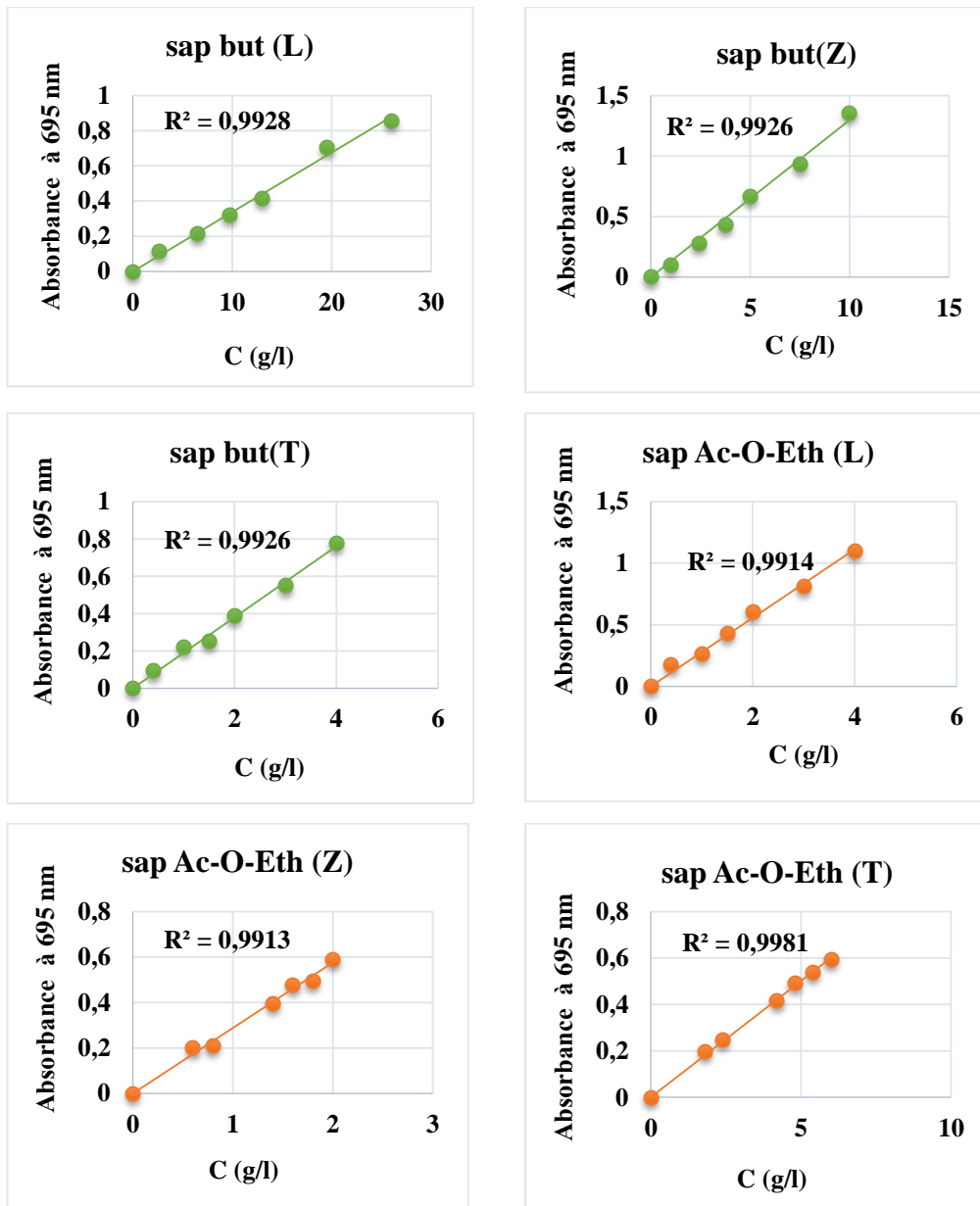


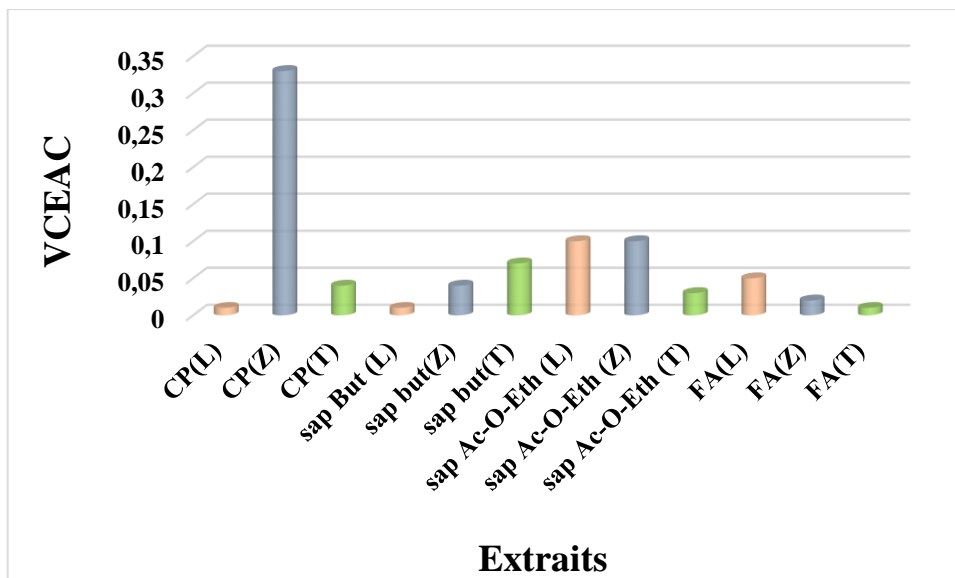
Figure 13 : les courbes représentent la variation de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits saponines d'*Opuntia ficus indica*

La comparaison entre les différentes activités antioxydants de nos extraits est montrée dans la Figure 14.les résultats sont résumé dans le tableau suivant :

**Tableau 6** : valeurs de VCEAC des extraits étudiés

Extraits	Régions	VCEAC	
Phénoliques	Laghouat	0,01±0,00	
	Zeralda	0,33±0,03	
	Tizi ousou	0,04 ±0,00	
Saponines	ButOH	Laghouat	0,01±0,00
		Zeralda	0,04 ±0,00
		Tizi ousou	0,07±0,00
	Ac-O-Eth	Laghouat	0,1±0,00
		Zeralda	0,1±0,00
		Tizi ousou	0,03±0,00
Aqueux	Laghouat	0,05±0,00	
	Zeralda	0,02±0,00	
	Tizi ousou	0,01±0,00	

Pour les différents extraits de raquettes d’*Opuntia ficus indica*, on note que l’extrait phénolique de Zeralda possède une activité antioxydante plus importante que les autres extraits. Cette résulte compatible avec le test de DPPH.



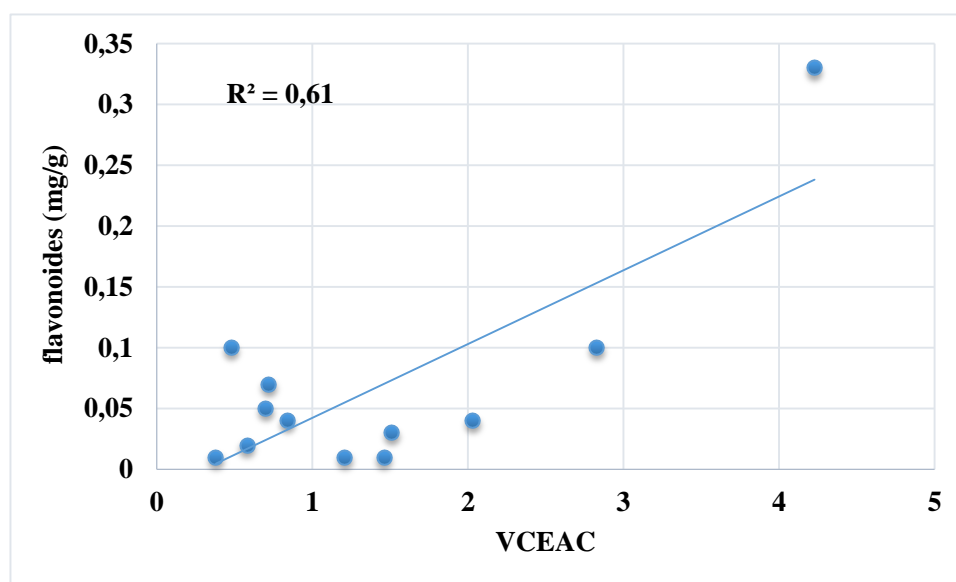
**Figure 14** : Comparaison de l’activité antioxydante des extraits des différentes variétés de Cactus

En fin, nous concluons que l'extrait phénolique de Zeralda est riche en composés phénoliques sur tous les flavonoïdes, et en plus possède une activité antioxydante importante.

Comparativement à d'autres études, nos résultats déferent avec ceux obtenus par Halmi., 2014 sur les extraits de raquettes d'*Opuntia ficus indica* où l'activité antioxydante est élevée chez la fraction aqueuse.

D'après les résultats obtenus de dosage (phénol totaux et flavonoïdes) et évaluation d'activité antioxydant (DPPH et test phosphomolybdate), nous avons constaté qu'il y'a une corrélation uniquement entre la teneur des flavonoïdes et test phosphomolybdate.

Pour le reste des extraits on conclue que l'activité ne dépend pas de la dose mais de la structure des molécules responsable de l'activité anti-DPPH.



**Figure 15** : Corrélation entre les valeurs de VCEAC et des teneurs en flavonoïdes des extraits d'*Opuntia ficus indica*

# Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie (Boudechiche., 2012). Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus pour beaucoup de médicaments de synthèse. Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de ces molécules thérapeutiques d'origine naturelle (Mohammedi., 2012). L'objectif primordial assigné par cette étude englobe le même contexte, afin d'évaluer les teneurs en principes actifs et les propriétés antioxydantes des extraits phénoliques et saponines des raquettes d'*Opuntia ficus indica*.

Dans la chronologie de cette étude nous avons collecté en premier lieu les échantillons d'*Opuntia ficus indica*, de trois régions différentes d'Algérie à savoir : (Laghouat, TiziOuzou et Zeralda) et en deuxième lieu déterminer leur contenu en composés phénoliques et leur effet antiradicalaire.

La quantification des phénols totaux réalisée selon la méthode adoptée par Singleton et Ross en 1965 ainsi que quantification les flavonoïdes selon la méthode adaptée par Lamaison et Carnat (1991) en utilisant le réactif de trichlorure d'aluminium, a montré que nos extraits sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes avec des valeurs qui varient de  $(1,07 \pm 0,05)$  à  $(9,24 \pm 1,05)$  et de  $(0,38 \pm 0,00)$  à  $(4,23 \pm 0,55)$  respectivement.

L'activité antioxydante de nos extraits a été testée *in vitro* avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrasyl (DPPH), les résultats d'IC<sub>50</sub> varient de  $(0,32 \pm 0,00)$  à  $(10,35 \pm 0,27)$  mg/ml). Nous avons ainsi réalisé test de phosphomolybdate où la valeur du paramètre VCEAC sont de  $0,01 \pm 0,001$  jusqu'au  $0,33 \pm 0,036$ . Les résultats obtenus montrent que l'extrait phénolique d'acétate d'éthyle de Zeralda est plus actif par rapport aux autres.

En perspectives, des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer, les composés des raquettes d'*Opuntia ficus indica* (notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés phénoliques) et le mécanisme par lequel ces composés accomplissent leurs effets antioxydants.

# Références Bibliographiques

- ❖ **Aberkane, M.C.(2006).** Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Université de Batna. Pp163.
- ❖ **Ali, N.A.A., Julish ,W.D., Kusunick, C., Lindesquist, U.(2001).** Screening of yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*. Pp173-179.
- ❖ **Amale,B.(2015).** Etude physico-chimique, biochimique et stabilit\_e d'un nouveau produit : jus de cladode du \_guier de Barbarie marocain (*Opuntia \_cus-indica* et *Opuntia megacantha*).P118-128
- ❖ **Amzal ,H.(2010).** Etude de l'activité antioxydant des saponines du tourteau de l'arganier. Université Mohammed V Agdal. Rabat-Maroc.
- ❖ **Arba ,M. (2009).** Le cactus opuntia, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc Rabat. Maroc. Pp14-16.
- ❖ **AVISSAR, N., WHITIN, J and ALLEN, P.(1989).** Plasma selenium-dependent glutathione Peroxidase, *Journal Biologie Chem*
  
- ❖ **Bahorun ,T.(1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council. Mauritius. Pp 83-94.
- ❖ **Bahorun, T., Grinier ,B., Troitin ,F., Brunet, G., Pin T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin ,M., Cazin, C and Pinkas, M.(1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneimittel-Forsching*. Pp1086-1089.
- ❖ **Bari ,M.N., Zubair ,M., Rizwan, K., Rasool N., Bukhari, I.H., Akram, S., Bokhari, T.H., Shahid, M., Hameed, M and Viqar, U.A.(2012).** Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. *J. CHem. Soc. Pak*. Pp 990-995
- ❖ **Ben Laksira, B.S., Halmi, S., Djerrou, Z., Beroual, K., Bachtarzi, K., Maamri, Z and Hamdi Pacha ,Y.(2013).** Cicatrizing effect of *Opuntia ficus indica* aqueous extract and seeds powder in New Zealand rabbits. *Int. J. Med. Arom. Plants*. Pp.159-162.
- ❖ **Benarous ,K.(2010).** Evaluation de l'activité antioxydante et étude des effets inhibiteurs des extraits phénoliques, saponines et alcaloïdes sur la lipase de *Candida rugosa*. Université Amar Thelidji, Laghouat- Algérie. Pp13-105
- ❖ **Boudechiche, L.(2012).** Valorisation du figuier de barbarie en alimentation animale. *Renc. Rech. Ruminants*. Pp218.

- ❖ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec &Doc (Ed). Paris.P575.
- ❖ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec &Doc (Ed). Paris.P575.
- ❖ **Bruneton, J.(1993).**Pharmacognosie, phytochimie : Plantes médicinales (2e édition). Ed. Lavoisier, Paris.P 915 .
  
- ❖ **Ćetković, G.S., Čanadanović-Brun, J., Djilas, S.M., Tumbas ,V.T., Markov, S.L et Cetković, D.D.(2007).** Atioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of Satureja Montana L. subsp. Kitaibelii Extracts.
- ❖ **Chia-chi, C.(2002),** estimation total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods , journal of food and drug analysis ,V10 .P178-182.
- ❖ **Congo, M.(2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso .P 42.
  
- ❖ **Dacosta, Y.(2003).** Les phytonutriments bioactifs : 669 réfeérences bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris. p. 317.
- ❖ **Dai, J. et Mumper, R. J. (2010).** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. Molecules .V15. P7313-52.
- ❖ **De Pooter, H.L., Schamp, N.(1986).** Comparaison of the volatils composition of some Calamintha satureja species. In : Progress in essential oil research. Edition E-J. Brunk, Walter De Gruyter. Berlin. Pp139-150.
- ❖ **Dendougui , S. (2010),** contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante de Cleome Arabica, mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- ❖ **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J. F., Stocker, P.(2007).** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. Eur. Food Res. Technol. Pp 801-809.

- ❖ **Estrada, A., Katselis, G S., Laarveld, B and BarlB .(2000).** Isolation and evaluation of immunological adjuvant activities of saponins from *Polygala senega* L. *Comp Immunol Microbial Infect Dis* 23.P27-43.
- ❖ **Favier, A.(2003).** Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique* .p.108-117.
- ❖ **Ferrari ,J.(2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des Thymelaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne. P242.
- ❖ **Fontana Pereira , D.,Cazarolli, L.H, Lavado, C .,Mengatto, V., Bonorino, F., Guedes, A, Geraldo Pizzolatti, M and Barreto Silva, F.(2011).** Effects of flavonoids on  $\alpha$ - glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis, *Volume27, Issues 11-12, November\_Decembre 2011, Pp 1161-1167.*
- ❖ **Galati, E.M., Tripodo, M.M., Trovato, A., d'Aquino, A and Monforte, M.T.(2003).** Biological activity of *Opuntia ficus indica* (L.) MILL. cladodes, note II: effect on experimental hypercholesterolemia, *Pharmaceutical Biology*. V41. P175-179
- ❖ **Georgieva , S., Boyadzhiev, L and Angelov, G.(2010).** Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel*. V5.P124-132
- ❖ **Gomez-Caravaca , A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A and Fernandez-Gutierrez, A.(2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Pp1220-1234.
- ❖ **Guignard, J.L.( 2000).** *Biochimie végétal* 2ème édition Dunod. P188.
- ❖ **Guinebert, E., Durand, P., Prost, M., Grinand, R and Bernigault, R.(2005).** Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole 2005*. P.554-558.
- ❖ **Hadj Sadok , T., Aid, F., Doumandji, A et Bellal, M.(2013).** Effet du jus de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur la fermentation du lait et la croissance des bactéries lactiques et probiotiques. *Nature et Technologie*. Pp 17-29.

- ❖ **Halmi, S.(2014).**Etude botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus indica.P98-120
- ❖ **Hoffmann, L.(2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Thèse de Doctorat : Université de LOUIS PASTEUR-STRASBOURG I.
- ❖ **Hyun-II, J., Mi-Na, C., Eun-In, Y., Dong, G and Young-Soo, K.(2013).** Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Korean Cactus (*Opuntia humifusa*) Cladodes. Hort. Environ. Biotechnol. Pp288-295.
- ❖ **Kemassi, A.(2014).** Toxicité comparée des extraits d'Euphorbia guyoniana (Stapf.) (*Euphorbiaceae*), Cleome arabica L. (*Capparidaceae*) et de *Capparis spinosa* L. (*Capparidaceae*) récoltés de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional) sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, universite Kasdi Merbah-Ouargla.P 243.
- ❖ **Khacheba , I., Djeridane, A., Kameli, A., Yousfi, M.(2014).** The Inhibitory Effect of Some Algerian Plants Phenolics Extracts on the  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase Activities and their Antioxidant Activities,Université Amar Telidji- Laghouat- Algérie. Current Enzyme Inhibition, , Edition Bentham science Publishers . V10.P59-68
- ❖ **Koehn , F.E., Carter, G.T.(2005).** The evolving role of natural products in drug discovery. Nat Rev Drug Discov. Pp 206-220.
- ❖ **Kuda, T., Kunii, T., Goto, H., Suzuki, T and Yano, T.(2007).** Varieties of antioxidant and anti-bacterial properties of *Ecklonia stolonifera* and *Ecklonia kurome* harvested and processed in the Noto peninsula, Japan, *Food Chem.* vol 103.p. 900-905
- ❖ **Lagunez Rivera ,L.(2006).**Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse.P335

- ❖ **Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J and Lee, C.Y.(2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* Pp7292-7295.
- ❖ **Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., chen, F and Tian, Y.(2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry.* Pp771-776.
- ❖ **Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J.D., Martelli, A., Stevigny, C and Arlorio, M. (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry.* Pp1647-1655.
  
- ❖ **Maarouf ,A .(2000).** Dictionnaire botanique .Pp 129.
- ❖ **Maataoui ,B. S., Hmyene, A and Hilali, S. (2006).** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal.*P3-8.
- ❖ **MARFAK, A.(2003).** Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools, Thèse de doctorat, p. 6-10.
- ❖ **Mariod , A.A., Ibrahim, R.M., Ismail, M and Ismail, N.,(2009).** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cummin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry.* Pp306-312.
- ❖ **Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N and Ayachi, A. (2013).** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparidées *spinosa* l. *Lebanese Science Journal.* V14 .P 52.
- ❖ **Mohammedi , Z.(2012).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat.Univ. De Tlemcen.
- ❖ **Mulas, M Et Mulas, G.(2004).** 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.
- ❖ **Murray,R., Herz ,W., Kirby ,C., Steglich ,W and Tamm, C. (1991).** Progress in the chemistry of organiconaturalproduct, Springer-Verlag : Berlin.
- ❖ **Muthu , C., Ayyanar, M., Raja, N and Ignacimuthu ,S.(2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.* Pp1-10.

- ❖ **Nadia, C ., Abderezak, T., Wahiba, H ., Salima, H ., Alexandre, B.,Tristan, R and Romain, L .(2013).** Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. Food Chemistry .P 796–803.
- ❖ **Nur Alam ,M., Bristi, N and Rafiquzzaman, M.(2013).** Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. P145-149.
- ❖ **Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R and Simons, A.(2009).** Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0
- ❖ **Sparg, S. G., Light, M. E and Van Staden,J.(2004).** Biological activities and distribution of plant saponins. Journal of Ethnopharmacology .P219-243
- ❖ **Stintzing , F.C and Carle, R.(2004). In: Mohammed, M., Stintzing, F and Carle, R.(2006).** Evaluation of different methods for production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. Innovative Food Science and Emerging Technologies. Pp 275-287.
- ❖ **Tadera, K.,Minami, Y., Takamatsu, K and Matsuoka, T.(2006).** Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids.JnutrSciVitaminol (Tokyo).P149-53
- ❖ **Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M and El- Elimat, T.(2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chem. Pp1372 – 1378.
- ❖ **Visioli, F., Borsani, L and Galli, C. (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. Cardiovascular Research.P419–425.
- ❖ **Vuorela , S.( 2005).** Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed.University of Helsinki. Helsinki. Pp 76.
- ❖ **Waksmundzka-Hajnos, M. et Sherma, J. (2011).** High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience. Chromatographic Science Series, P477-478.