

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques
Département Biochimie et Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de diplôme de master académique en Biologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

Etude comparative de deux procédés de séchage de

Pyracantha coccinea.

**Evaluation antimicrobienne de certains composés
phénoliques**

Travail réalisé par :

M^{elle}: BRAHAMI Djouhra

M^{elle} : KARROUR Lynda

Proposé et dirigé par :

M^{me} BENAHMED DJILALI Adiba

Maître de Conférences(A) (UMMTO)

Devant le jury :

Président : Mr AMROUCHE T.

Maître de Conférences (A) (UMMTO)

Examineur : Mr ALILI N.

Maître Assistant (A) (UMMTO)

Examinatrice : M^{me} HELLAL Z.

Maître Assistante (A) (UMMTO)

Année universitaire : 2015 - 2016

Remerciements

En premier lieu, on remercie Allah le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la sante et le courage pour réaliser ce travail.

On tient à remercier Madame BENAHMED DJILALI Adiba, Maître de conférences A à la faculté des sciences agronomique et biologique, Université Mouloud Mammeri, qui a bien voulu nous encadrer

On remercie Mr AMROUCHE T Maître de conférences A à la faculté des sciences agronomiques et biologiques, Université Mouloud Mammeri, d'avoir accepté de présider le jury.

On remercie Mr ALILI N Maître Assistant A à la faculté des sciences agronomiques et biologiques, Université Mouloud Mammeri, pour son aide et de l'honneur qu'il nous fait d'avoir accepté de juger ce travail en tant qu'examineur.

On remercie de tout cœur Madame HELLAL.Z Maître Assistant à la faculté des sciences agronomiques et biologiques, Université Mouloud Mammeri qui a bien voulu examiner ce travail.

On remercie également Monsieur HOUALI. K, et madame LAHCEN qui ont mis à notre disposition certains matériaux nécessaires pour la réalisation de ce travail.

On tient à remercier, tous les membres des laboratoires communs d'Agronomie et de biologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour leurs aides et gentillesse à notre égard.

On remercie enfin, tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



DEDICACE

Je remercie Dieu, le tout puissant, de m'avoir donnée la force et la patience.

Je dédie ce travail à ma défunte Grand-Mère qui ma marquée profondément par sa sagesse et sa gentillesse, je suis reconnaissante pour tous ces efforts et conseils pour faire de moi une fille éduquée et accomplie

À la mémoire de mon grand père

À

Mes très chers parents, qui ont veillé sur moi, et qui ont su me transmettre leurs valeurs et qui se sont toujours donné du mal pour assurer mon bien être. Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Mon adorable frère, qui est toujours a mes côtés pour m'aider et me consoler .Que dieu te garde pour nous.

Dada Makhlouf, qui est toujours là pour m'encourager et me remonté le morale

Mes Chères sœurs Djedjiga et Ninane qui sont mon ombre et la source de ma joie.

Ma tante Eldjida et sa famille, et mes oncles (Atman et sa femme Safia et Abdallah et sa femme Fatima)

Mes tantes et leurs famille en particuliers Tounsia qui ma aider à la réalisation de ce travail, nana Hayet,nana Baya,nana Tassadi

Aux anges de la famille Mohand,Amar, Blaid,Thiziri Djamila en particulier Cherif

Mes amis Asma, Radia, Fatma, Hassiba, Tina, Lilia, Samia,Dahbia avec lesquelles j'ai partagé les bons et dur moment de mon cursus

Mon binôme Djouhra et à toute sa famille

Mes grands -mères et mon grand père.

Aux étudiants de la promotion Biotechnologie microbienne 2015/2016

Aussi mes dédicaces à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

LYNDA





Dédicace

Je remercie dieu tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but.
Je dédié ce modeste travail

A

Mes parents,
Pour vos mains qui ont tant travaillées,
Pour votre cœur qui m'a ton donné,
Pour vous qui m'avez tant aimé. Que Dieu les protèges

A Mes chères grands-mères et grand-père

A mes agréables et aimables frères et sœurs

Youva, Gaya, Liza, Thiziri, Maya, Nina

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite

A mes oncles et mes tantes

A toutes mes chers amis

Aghiles, Tina, Lilia, Radia, Asma, Ninan, Hassiba.

A mon binôme *Lynda* et sa famille

A tout mes amis que j'ai connus dans ma vie

*A*ux étudiants de la promotion Biotechnologie microbienne

2015/2016

*A*ussi mes dédicaces à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à
réaliser ce travail.



Djouhra

Glossaire

- **ADN gyrase** : une protéine qui appartient à la classe des ADN topo isomérases de classe II. Cette enzyme est essentielle au développement des bactéries
- **Adipocyte** : est un type de cellule qui permet de stocker les graisses, ou triglycérides, elle se retrouve dans les tissus adipeux du corps.
- **Aglycone** : est une partie non glucidique entrant dans la composition d'un hétéroside.
- **Alcaloïdes** : substance d'origine végétale toxique, thérapeutique ayant les propriétés des alcalis.
- **Allelopathie** : est l'ensemble de plusieurs interactions biochimiques directes ou indirectes positives ou négatives, d'une plante sur une autre (micro-organismes inclus) au moyen le plus souvent de métabolite secondaire.
- **Antagoniste** : Substance se fixant sur les mêmes récepteurs cellulaires qu'une substance de référence, en empêchant celle-ci de produire tout ou partie de ses effets habituels.
- **Anthocyane** : pigments naturels pouvant aller du bleu vers le rouge sont présents dans les feuilles, pétales, fruits, connues pour leur effet antioxydants.
- **Arbuste** : plante ligneuse vivace ne dépasse pas 10m de hauteur dont le tronc n'est pas ramifié dès la base.
- **Basophile** : sont des éléments figurés comme les polynucléaires, qui se colorent préférentiellement par utilisation de réactifs dont la base est un colorant.
- **Biodisponibilité** : la mesure de la vitesse d'absorption et de la vitesse d'adsorption et de la quantité de médicament absorbé.
- **Biotransformation** : désigne l'ensemble des mécanismes métaboliques par lesquels un polluant est chimiquement modifié et généralement dégradé par un organisme.
- **Caroténoïdes** : des pigments liposolubles pouvant présenter une couleur orange à jaune. Naturellement produits par les végétaux et les cyanobactéries, ils participent à la photosynthèse.
- **Catéchine** : Composé extrait des plantes ligneuses, où il joue le rôle de précurseur des tanins.
- **Chalcone** : est un composé aromatique naturellement synthétisé par de nombreuses plantes.
- **Chélation** : est le procédé par lequel une substance organique se lie à des minéraux ou des métaux ionisés.

- **Composés aromatiques** : sont des molécules dont les atomes de structures cyclique et plane généralement stable.
- **Corolle** : la seconde enveloppe d'une fleur généralement composée d'organes colorés semblables à ses feuilles.
- **Cosmopolite** : un organisme cosmopolite se dit d'une espèce végétale ou animale, à distribution géographique très vaste et répandue dans quasiment le monde entier.
- **Cyano-génétique** : en chimie, relative au cyanogène, et à la fabrication d'acide cyanhydrique à partir du noyau de certaines graines.
- **Diététique** : la science de l'alimentation équilibrée.
- **Dicotylédone** : plante angiosperme dont la graine possède deux cotylédons.
- **Etamine** : est l'organe mâle de la reproduction chez les végétaux supérieurs ou angiosperme.
- **Glucosinolates** : sont des composés organiques qui ont des molécules qui possèdent des propriétés antibactérienne, antioxydante, antifongique, anti cancérogène.
- **Herpès** : est une infection de la peau ou des muqueuses, d'origine virale, et entraînant l'apparition de lésions.
- **Hespéridine** : c'est un flavonoïde naturel contenu dans le flavedo d'orange et utilisé pour le traitement de la fragilité des capillaires sanguins.
- **Hétéroside** : sont des molécules nées de la condensation d'un sucre (ose alors qualifié de aglycone) et d'une substance non glucidique (appelée aglycone ou génine). Ces deux éléments sont réunis par une liaison dit glycosidique.
- **Intégrase rétrovirale** : est une enzyme produit par les rétrovirus permet l'intégration de leur matériel génétique convertie en ADN à l'intérieur du génome de la cellule hôte.
- **LDL cholestérol**: Lipoprotéines de Faible Densité.
- **Isothiocyanates** : utilisé pour la détermination des protéines.
- **Leucotriène** : composé dérivant d'un acide gras polyinsaturé, intervenant dans le métabolisme.
- **Lignanes** : sont des composés phénoliques formés de deux unités monolignols.
- **Phyto-œstrogènes** : sont des nutriments d'origine végétale de structure non stéroïdienne, ils sont divisés en trois catégories, isoflavones, les lignanes, les coumestanes.

- **Lipogenèse** : désigne l'ensemble des processus biochimiques permettant la synthèse des lipides en général et des acides gras en particulier.
- **Mastocyte** : est une cellule que l'on trouve principalement au niveau des tissus conjonctifs ainsi que sur les muqueuses et dans tous les organes.
- **Mésophile** : organisme dont la croissance est optimale sous une température comprise entre 20 et 45°C.
- **Microflore colique** : est l'ensemble des micro-organismes (archées, bactéries, protistes) qui se trouvent dans le tube digestif.
- **Mucus** : est une substance épaisse et visqueuse sécrétée par les muqueuses et les cellules glandulaires, qu'elle humidifie et protège.
- **Mycose** : est une maladie due à un champignon ou à des levures parasites.
- **Myricétine** : est un composé organique de la famille des flavonols, naturellement présent dans de nombreux types de végétaux.
- **Nobilétine** : est un composé de la famille des flavones. C'est plus précisément une flavone O-méthyle que l'on trouve dans l'écorce des fruits de la famille citrus.
- **Orchidées** : plante ornementale de la famille des orchidacées.
- **Pélargoniums** : plante herbacée vivace à fleurs régulières dialypétales.
- **Peroxydation** : Réaction chimique consistant à porter un atome ou une molécule au plus haut degré possible d'oxydation.
- **Pétale** : est une pièce florale qui entoure le système reproducteur des fleurs.
- **Phéromone** : sont des substances chimiques comparables aux hormones émises par la plupart des animaux, et certains végétaux et qui agissent comme des messagers entre les individus d'une même espèce.
- **Phytopathogènes** : sont des organismes susceptibles d'infecter les végétaux et d'y déclencher des maladies.
- **Phytostérols** : sont des substances d'origine végétale, qui ne peuvent pas être synthétisées ni par l'homme ni par animaux, ils ont une structure chimique proche du cholestérol.
- **Saponines** : sont des molécules naturellement produites par les végétaux et animaux qui moussent abondamment lorsqu'on les agite dans une solution.
- **Sépale** : est l'un des éléments foliacés généralement verts, observés à la base de la corolle, sous les pétales. L'ensemble des sépales forme le calice de la fleur.

- **Stilbènes** : ce sont des polyphénols naturels présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures.
- **Ruténoïde** : est un hétéroside dérivé du rutinose, un sucre.
- **Quercétine** : un flavonoïde de type flavonol présent chez les plantes comme métabolite secondaire.
- **Rétrovirus** : est un virus dont la multiplication repose sur la transcription de l'ARN en ADN, à la différence des autres virus, qui font le contraire.
- **Synergie** : Association de plusieurs organes pour l'accomplissement d'une fonction physiologique.
- **Tanins** : sont des métabolites secondaires de certaines plantes supérieures ils se retrouvent dans toutes les parties du végétal, molécules de nature phénolique, elles protègent les plantes de l'infestation par certains parasites.
- **Transcriptase inverse** : est une enzyme qui permet de convertir l'ARN en ADN.
- **Vasodilatateurs** : substance qui accroît le diamètre des vaisseaux sanguins.
- **Veintonique** : appartiennent à la plupart à la famille des flavonoïdes ils agiraient en augmentant la tonicité des parois veineuses.

Liste des abréviations

AMPc : Adénosine MonoPhosphate cyclique

ATCC : Américain Type Culture Collection

BHT : Hydroxy Toluène Butyle

CCM : Chromatographie Couche Mince

DO : Densité Optique

ET : Ecart Type

gp-120 : glycoprotéine

HIV : Virus de l'Immunodéficience humaine

H : Humidité

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance

Kv : kilovolt

LDL : Lipoprotéine de Faible Densité

MEB : Microscope Electronique à Balayage

MS : Matière Sèche

P : *Pyracantha*

TR : Temps de Rétention

Liste des figures

Figure 01 : Les différentes parties de la plante <i>Pyracantha coccinea</i> cultivée à Boumerdès...	5
Figure 02 : Diagramme florale de fruit <i>Pyracantha coccinea</i>	5
Figure 03 : Effets biologiques des polyphénols.....	10
Figure 04 : Squelette de base des flavonoïdes.....	11
Figure 05 : Structure des différentes classes de flavonoïdes.....	12
Figure 06 : Courbes théorique caractérisant un séchage par entrainement.....	26
Figure 07 : Filtration des extraits aqueux et éthanoïques.....	41
Figure 08 : Diagramme de dosage des polyphénols totaux.....	41
Figure 09 : Différents extraits de flavonoïdes.....	42
Figure 10 : Etapes de dosage des flavonoïdes.....	42
Figure 11 : concentration des extraits par rot vapeur.....	44
Figure 12 : Séparation de la fraction F ₀	44
Figure 13 : Séparation différentes fractions de flavonoïdes <i>Pyracantha coccinea</i>	45
Figure 14 : Diagramme de fractionnement des flavonoïdes par des solvants de polarité croissante.....	46
Figure 15 : L'extrait filtré.....	48
Figure 16 : Aspect des extraits phénoliques issus des poudres de <i>Pyracantha coccinea</i>	49
Figure 17 : Courbes de séchage de fruit <i>Pyracantha coccinea</i> à air chaud (65,75 °C).....	51
Figure 18 : Courbe de séchage de fruit <i>Pyracantha coccinea</i> à air libre.....	51
Figure 19 : Les différentes poudres de <i>Pyracantha coccinea</i> obtenues par les deux modes de séchage.....	52
Figure 20 : Résultats relatifs aux taux des polyphénols des différents extraits à base de <i>Pyracantha coccinea</i>	59
Figure 21 : Résultats relatifs aux taux des flavonoïdes des différents extraits à base de <i>Pyracantha coccinea</i>	61
Figure 22 : dosage des fractions des flavonoïdes.....	66
Figure 23 : Chromatogramme de la catéchine.....	67
Figure 24 : Chromatogramme de l'acide hydroxybenzoïque.....	67
Figure 25 : Chromatogramme de la quercétine.....	68
Figure 26 : Chromatogramme de l'extrait méthanoïque de <i>Pyracantha coccinea</i>	68
Figure 27 : Structures microscopiques des poudres de fruit <i>Pyracantha coccinea</i>	70

Figure 28 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits éthanoïques de différentes poudres de *Pyracantha coccinea*...72

Figure 29 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits aqueux de différentes poudres de *Pyracantha coccinea*.....73

Figure 30 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits éthanoïques de différentes poudres de *Pyracantha coccinea*.....75

Liste des tableaux

Tableau I : Les souches utilisées.....	30
Tableau II : Séchage de fruit <i>Pyracantha coccinea</i> par deux procédés de séchage	31
Tableau III : Vitesse et gradient d'éluion (%).....	44
Tableau IV : Paramètres physiques de fruit <i>Pyracantha coccinea</i> (n=3).....	53
Tableau V : Résultats de screening phytochimique de fruit <i>pyracantha coccinea</i>	54
Tableau VI : Teneur en eau et en matière séché de fruit du <i>pyracantha coccinea</i> (n=3).....	55
Tableau VII : Résultats de quelques paramètres physico-chimique des poudres obtenus (n=3).....	56
Tableau VIII : Composition minérales de fruit <i>Pyrachanta coccinea</i>	58
Tableau IX : quantité moyenne de polyphénols extraits (mg EAG/g MS).....	60
Tableau X : quantité moyenne des flavonoïdes extraits (mg EQ/g MS).....	62
Tableau XI : Analyse de la variance des quantités de flavonoïdes extraites en (mg EQ/g)	63
Tableau XII : Matrice de comparaison des conditions d'extraction.....	64
Tableau XIII : Teneurs des fractions de flavonoïdes de <i>pyracantha coccinea</i> exprimées en milligramme d'équivalents de quercetine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g)	65
Tableau XIV : temps de rétentions des flavonoïdes standards	69
Tableau XV : Temps de retentions des flavonoïdes dans le fruit	69
Tableau XVI : Diamètres (mm) des zones d'inhibitions (moyenne \pm ET) exprimés pour l'extrait des trois poudres (n=3)	71
Tableau XVII : (mm) des zones d'inhibitions (moyenne \pm ET) exprimés pour l'extrait des trois poudres (n=3)	74

Sommaire

Résumé

Abstract

Glossaires

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Pyracantha coccinea*

I.1.Description de la famille des rosacées 3

I.2.Etymologie 3

I.3.Classification systématique 4

I.4.Description morphologique 4

I.5.Répartition géographique 6

I.6.Utilisation de la plante *Pyracantha coccinea* 7

Chapitre II : Généralités sur les composés phénoliques

II.1.Les composés phénoliques 8

II.1.1.Définition 8

II.1.2.Classification 9

II.1.3.Effet biologique des polyphénols 9

II.2.Les flavonoïdes 10

II.2.1.Définition 10

II.2.2.Structure et composition chimique 11

II.2.3.Classification 11

II.2.4.Localisation 12

II.2.5.Propriétés botaniques 13

II.2.6.Distribution	13
II.2.7.Consommation.....	14
II.2.8.Biodisponibilité	14
II.2.9.Métabolisme	15
II.2.10.Propriétés et effets pharmacologique et biologique	15
II.2.10.1.Propriétés antibactérienne.....	15
II.2.10.2.Propriétés antivirale	16
II.2.10.3.Activité antifongique	17
II.2.10.4.Propriétés anti-inflammatoire	17
II.2.10.5. Propriétés antiulcéreuse	18
II.2.10.6. Propriétés antioxydant	18
II.2.10.7.Effet anti cancérigène	19
II.2.10.8.Effet cardiovasculaire	20
II.2.10.9.Intérêt des flavonoïdes contre l'obésité	20

Chapitre III. Cinétiques et procédés de séchage

III.1.Définition de séchage	22
III.2.Principe de séchage	22
III.3.Différents type de séchage	23
III.3.1.Séchage naturel (traditionnel à air libre)	23
III.3.2.Séchage artificiel (à air chaud).....	24
III.4.Cinétique de séchage	24
III.4.1Définition	24
III.4.2.Méthodologies d'obtention des courbes de séchage	25
III.4.2.1.Calcul de la vitesse de séchage.....	25
III.4.2.2.Méthode de la détermination de la courbe caractéristique de séchage.....	25
III.5.Les différentes phases de séchage	26

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1.Cadre de l'étude	29
IV.2.Objectifs de l'étude	29
IV.3.Matériel	29
IV.3.1.Appareillage et réactifs	29
IV.3.2.Matériel végétal.....	29
IV.3.3.Matériel biologique	29
IV.4 Méthodes	30
IV. 4.1.Cinétique séchage	30
IV. 4.2.Caractérisation morphologique de fruit.....	32
IV.4.2.1.Mesure de diamètre	32
IV.4.2.2 Mesure de poids moyen	32
IV.4.3.Analyse phytochimique de fruit	32
IV.4.3.1.Préparation de l'infusé	32
IV.4.4.Caractérisation physico-chimique de fruit	34
IV.4.4.1.Détermination de la teneur en eau.....	34
IV.4.4.2.Mesure de pH	35
IV.4.4.3.Détermination de la teneur en cendres	35
IV.4.4.4.Détermination des éléments minéraux	36
IV.4.4.5.Détermination de l'acidité titrable	37
IV.4.4.6.Dosage des sucres	38
IV.4.4.7.Dosage de l'acide ascorbique.....	40
IV.4.4.8.Dosage des polyphénols totaux.....	40
IV.4.4.9.Dosage des flavonoïdes.....	42
IV.4.4.10.Analyse statistique	43
IV.4.4.11.Fractionnement des flavonoïdes.....	43
IV.4.4.12.Identification et quantification des flavonoïdes par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).....	47
IV.4.4.13.Analyse de la microstructure de la poudre de <i>Pyracantha coccinea</i> ...48	
IV.4.4.14. Activité antimicrobienne.....	49

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1. Cinétique de séchage	51
V.2. Résultats de la caractérisation morphologique de fruit	53
V.3. Résultats d'analyse phytochimique	53
V.4. Résultats des paramètres physico-chimiques de fruit.....	55
V.4.1. Teneur en eau	55
V.4.2. Caractérisation physico-chimique des poudres obtenues	55
V.5. Les éléments minéraux	58
V.6. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	58
V.6.1. Dosage des polyphénols	58
V.6.1.2. Résultats d'analyse statistique des polyphénols	60
V.6.2. Dosage des flavonoïdes	61
V.6.2.1. Résultats d'analyse statistique des flavonoïdes.....	62
V.6.2.2. Effet des facteurs étudiés.....	63
V.6.2.3. Détermination des groupes homogènes	64
V.6.3. Relation entre les quantités totales de Polyphénols et de flavonoïdes extraites.....	65
V.6.4. Dosage des fractions des flavonoïdes.....	65
V.7. Analyse qualitative par Chromatographie à haute performance HPLC	66
V.8. Structures microscopiques des poudres.....	70
V.9. Résultats de l'activité microbienne	70
V.9.1. Résultats de l'activité antibactérienne	71
V.9.2. Résultats de l'activité anti fongique	74
Conclusion	77

Références bibliographiques

Annexes

.....

Introduction générale

Introduction générale

La médecine moderne et surtout la thérapie chimique présente un risque contre l'équilibre de la santé de l'homme, du fait de ses effets secondaires induisant d'autres maladies.

Par conséquent, l'homme a souvent eu recours à la médecine traditionnelle qui présente généralement moins de toxicité, moins de contre indications et peu de risques de surdosage.

Ladite discipline est basée sur l'utilisation des plantes médicinales et de leurs substances actives (Svoboda, 2000).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S), la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique ou mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération à d'autres (Bourgaud et *al*, 2001 ; Kar, 2007).

En effet, discernant parmi toutes les traditionnelles « recettes de bonnes femmes », le véritable usage des plantes, la persévérance et la clairvoyance de certains herboristes et chimistes ont revalorisé cet inestimable patrimoine auquel se sont intégrées les connaissances de la biologie moderne (Lucienne, 2013).

Les plantes sont capables de produire une grande diversité de produits ne participant pas à leur métabolisme de base, mais représentant plutôt des produits du métabolisme secondaire.

En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche des nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (Hmidi, 2013)

Parmi ces composés, les polyphénols représentent l'un des groupes les plus importants du fait de leur faible toxicité et de nombreux avantages biologiques, notamment thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires.

Les flavonoïdes constituent un groupe des produits naturels appartenant à la famille des polyphénols, largement représentés dans la quasi-totalité des plantes, faisant partie intégrante de notre nourriture quotidienne (Atik, 2007). Ils possèdent potentiellement des activités biologiques, anti-inflammatoires, anti-cancérogènes, antimicrobiennes et anti-oxydantes.

L'Algérie possède de nombreuses espèces constituées d'arbres et arbustes. La majorité de celles-ci ne sont pas mises en valeur suite au peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques.

Introduction générale

Pyracantha coccinea est une espèce qui appartient à la famille de rosacée, cultivée dans les jardins comme plante ornementale depuis la fin du XVI^e siècle.

Des études ont montré que l'espèce *Pyracantha coccinea* peut être utilisée comme agent multifonctionnels, pour le traitement du diabète du type II, la maladie d'Alzheimer, et soin de la peau (Cengiz ,2016).

L'objectif principal de ce travail est d'étudier la possibilité de séchage de fruit *Pyracantha coccinea* par deux modes de séchage (air chaud à deux températures à 65 et à 75°C et air libre toute en évaluant certaines propriétés biochimiques (teneurs en sucres, dosage des polyphénols totaux, fractionnement et identification des flavonoïdes), biologiques (activité antimicrobienne) des poudres obtenues.

Ce travail est subdivisé en trois parties :

La première partie comprend trois chapitres traitants respectivement des généralités sur la plante *Pyracantha coccinea*, les composés phénoliques et cinétiques et procédés de séchage.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale qui regroupe les différentes méthodes ainsi que le matériel utilisé.

Enfin, la dernière partie, rapporte les résultats obtenus suivi par une discussion finalisée par une conclusion générale.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur *Pyracantha coccinea*

I.1. Description de la famille des rosacées

Les rosacées sont composées d'environ 85 genres et 3000 espèces.

Elles font parties de la famille des plantes dicotylédones, composées des herbes, des arbustes ou des arbres. Elles peuvent Parfois être épineuses, souvent dû à leur composés cyano-génétiques, épines typiquement simples ou étoilés parfois en aiguillons (Walter, 2002).

Ces rosiers se développent dans nos jardins, et dans la nature (Brosse, 2005).

Cette famille est cosmopolite, cependant sa représentation est plus importante dans l'hémisphère nord.

Cette dernière peut présenter deux types de dangers :

- Danger physique: plusieurs espèces possèdent des épines particulièrement dangereuses surtout les buissons ardents.
- Danger de toxicité : de nombreuses rosacées synthétisent des hétérosides cyano-génétiques, c'est-à-dire des molécules qui s'hydrolysent par une enzyme spécifique, donnant des sucres, et de l'acide cyanhydrique connu comme poison violent (Reynoud, 2002).

Le genre *Pyracantha* est compris dans la famille des rosacées, il est composé d'environ 10 espèces qui sont :

P. coccinea;

P. angustifolia;

P. atalantoides;

P. crenatoserrata;

P. crenulata;

P. koidzumii;

P. rogersiana;

P. fortuneana;

P. dansiflora;

P. inermis (Steve *et al.*, 2011)

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés à l'étude de l'espèce *Pyracantha coccinea*.

I.2. Etymologie

Pyracantha coccinea vient du grec « pyros » qui signifie le feu et *acantha* « l'épine » en raison de ces épines acérées.

I.3. Classification systématique

La classification de *Pyracantha coccinea* (wikipédia, 2009).

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Mgnoliophyta

Sous classe : Mgnoliopsida

Ordre : Rosales

Famille : Rosaceae

Sous famille : Maloideae

Genre : *Pyracantha*

Espèce : *Pyracantha coccinea*

I.4. Description morphologique

Pyracantha coccinea (Figure 1) est un arbuste épineux, de port buissonnant (plus au moins chaotique), il se dresse sur un tronc ramifié dès la base, il peut atteindre des hauteurs allant de 3 à 4 mètres, voire plus.

Les rameaux de cet arbuste se caractérisent par de longues épines noires. De petites feuilles caciaces, de 2 à 5 cm de longueur et de 1 à 2 cm de largeur, avec persistances de forme lancéolée et aux bords plus ou moins crénelés. Elles arborent une couleur vert foncé et luisante sur la face supérieure avec une couleur un peu plus claire sur la face intérieure.

Les petites fleurs blanches sont disposées en grappes, elles sont régulières à symétrie rayonnée et pentamères (pièces florales 5) réunies en inflorescence.

Les fruits ronds de 5 à 6 mm de diamètre qui supportent des conditions climatiques sévères (froid et chaleur). Cette résistance attribue une longue durée de récolte qui s'étale jusqu'à la fin de l'hiver (Virginia, 2010).



Figure 01 : Les différentes parties de la plante *Pyracantha coccinea* cultivée à Boumerdès

a) Arbuste entier , b) Rameaux épineux , c) Fruit, d) Fleures

La corolle est formée de 5 pétales libres, le calice est composé de 5 sépales verts et persistants soudés à l’ovaire.

Les étamines sont très nombreuses entre 10 et 20, elles ont des filets libres et de petites anthères qui s’ouvrent par des fentes longitudinales (Figure 2).

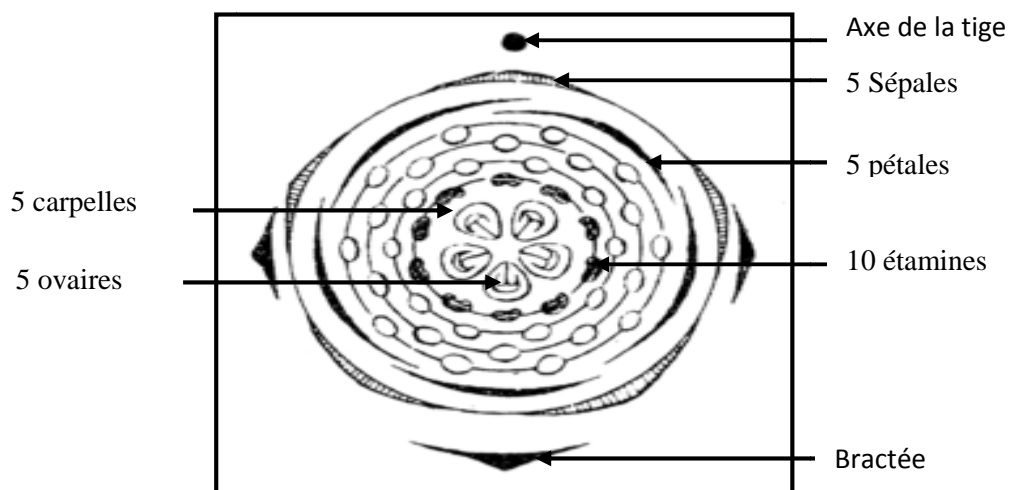


Figure 02 : Diagramme florale de fruit *Pyracantha coccinea*.

(Wikipédia, 2006)

I.4.Répartition géographique

L'espèce *Pyracantha coccinea* pousse dans différentes variétés de sol (humide, profond et drainé). La dite espèce tolère également les terres pauvres de nature calciques et sèches. Bien que la plupart des références indiquent que cette espèce préfère des sols à forte teneur en calcium (Roche *et al.* , 1998).

Comme de nombreuses espèces, la dite espèce préfère le climat tempéré chaud (méditerranéen) à refroidit et les climats subtropicaux. Les espèces pyracantha envahissent les montagnes de Huachuca de l'Arizona, zone connue par une pluviométrie annuelle de 371mm avec environ 10% de précipitation hivernales, relevant qu'une courte durée de neige (Xiwen et Walker, 1986).

Spécialement à Hawaii, les espèces de *Pyracantha* envahissent aussi les forêts humides et les zones ouvertes entre 3000 et 5000 pieds au dessus de niveau de la mer. Elles forment des forêts denses qui excluent d'autres plantes, du fait de leurs épines rendant l'accès difficile (Pier, 2007).

En Californie, elles sont généralement trouvées dans des sites perturbés, le long des routes, et aux extrémités des zones riveraines. Cependant, il existe de nouvelles introductions réussies en quantités limitées, en particulier dans les zones qui ne disposent pas d'un climat frais et humide (Cal-Ipc, 2006).

En France, *Pyracantha coccinea* se développe dans un climat méditerranéen qui est subhumide à humide et frais à hiver froid (Villabos *et al.* , 2010).

Villabos et ses collaborateurs (2010) ont constaté que la perturbation du sol et la dégradation de la couverture végétale sont dûes à la culture de *Pyracantha coccinea* dans la région de Montpellier, malgré la pression des propagules et le taux de germination élevé. Pour expliquer ce phénomène, ils ont opté pour l'hypothèse suivante :

Pyracantha coccinea avait échouée à devenir abondante dans les écosystèmes méditerranéens suite à son incapacité à germer juste avant ou pendant l'été, alors que les autres espèces ligneuses indigènes sont bien adaptées au climat chaud et sec par l'évolution des graines qui survivent en dormance durant l'été.

Pyracantha coccinea a été naturalisée en Norvège, Japon, Hongrie, Grand Bretagne, Autriche, Afrique du Sud, les Etats Unis et au Canada (Catlinge et Oldham 2010 ; Nesom2010 ; Usda2010) et répertoriée en Afrique du Sud comme une plante de végétation indigène et pâturage (gazon) qui contamine les graines et bloque l'accès (Wells *et al.*, 1986).

I.6. Utilisation de la plante *Pyracantha coccinea*

D'après les travaux réalisés par Cengiz (2016) *Pyracantha coccinea* est considérée comme une plante médicinale suite à son utilisation comme agent multifonctionnelle pour le traitement de diabète de type II, maladie d'Alzheimer et soin de la peau. D'autre recherche au cours de réalisation on signalé l'absence d'intoxication ou de malaise chez des rats après ingestion de fruit, ils ont remarqué une hypocholestérolémie et une baisse de la tension artérielle.

Chapitre II
Généralités sur les composés
phénoliques

II. 1 Les composés phénoliques**II.1.1 Définition**

Les polyphénols sont des molécules synthétisées lors du métabolisme secondaire des végétaux. Ces molécules constituent le groupe majoritaire le plus important dans le règne végétal. Les différentes parties de la plante possèdent des quantités en polyphénols variables selon l'espèce végétale et le groupe phénolique considéré.

Généralement, les polyphénols sont des composés chimiques aromatiques contenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles en plus d'autres constituants (Bamforth, 2000). Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés,

Selon cette définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, comme les tannins (Hagerman *et al.*, 1998, Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Ces métabolites sont doués de plusieurs fonctions protégeant la plante à savoir :

- Défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes.
- Dissuasion alimentaire, on parle du phénomène d'allélopathie qui caractérise certaines plantes qui émettant des substances inhibant la croissance des autres plantes.
- Attraction des pollinisateurs: les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes. Exemple : certaines orchidées synthétisent des phéromones sexuelles qui sont des substances volatiles émises par les insectes femelles pour attirer les mâles.
- Protection contre les rayonnements UV.
- Précipitation des alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Dangles *et al.*, 1992, Hagerman *et al.*, 1998 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).
- Molécules responsables des arômes et parfums des plantes. Certains arômes servent principalement à repousser les herbivores à titre d'exemple : les polyphénols des pélargoniums (Druyne, 1999, Schiestl *et al.* 2000, Yi-cai *et al.* 2000 ; Sasaki et Takhashi, 2002).

II.1.2. Classification

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les flavonoïdes
- Les tanins
- Les stilbènes
- Les lignanes et les coumestanes
- Les saponines (triterpénoïdes)
- Les phytostérols et les phytostanols
- Autres phytoestrogènes

Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (Dacosta, 2003).

II.1.3. Effets biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques possèdent des propriétés biologiques diverses d'où leur utilisation en thérapeutique. Ils montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (Babar Ali *et al.*, 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs (Falleh *et al.*, 2008) et antioxydantes (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006) (Figure 3).

Ces premiers sont classés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculoprotecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant de ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques ont été testés cliniquement comme des antiagrégants plaquettaires, ou hypotenseurs avec des résultats moins probants (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

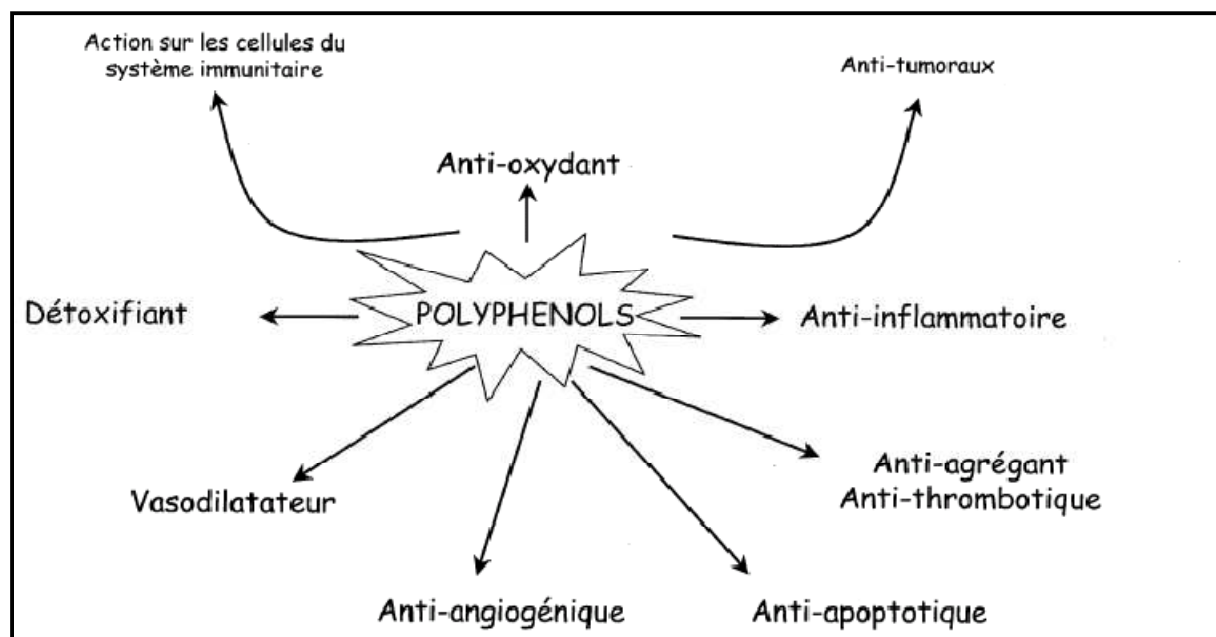


Figure 03 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II.2. Les flavonoïdes

II.2.1. Définition

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe de l'écorce d'orange (Piquemal, 2008). Cependant d'autres auteurs supposaient qu'il proviendrait du terme du flavus (flavus=jaune) (Karaali et *al.* 2004 ; Malasev et Kuntic, 2007).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique Chervreuli en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Gyortui, désignés sous le nom de vitamine P (P étant la première lettre de mot perméabilité), en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins.

Cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Nijveldt et *al.* 2006).

Ces derniers regroupent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyom et *al.*, 2006). De même, ils sont considérés comme des pigments universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles. A l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme hétérosides (Bruntenon, 1999; Ghestem *et al.* 2001).

De point de vue structural, ces composés se repartissent en plusieurs classes de molécules. En effet plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et William, 2000).

II.2.2 Structure et composition chimique

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone, constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) (Figure 4), qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi l'hétérocycle (C) (Erdman *et al.*, 2007).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C₆-C₃-C₆ (Emerenciano *et al.*, 2007) en formant une structure de type diphenyle propane dont les groupements hydroxyle, oxygène, méthyle, ou des sucres qui peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana, 2001; Malesev et Kuntie, 2007).

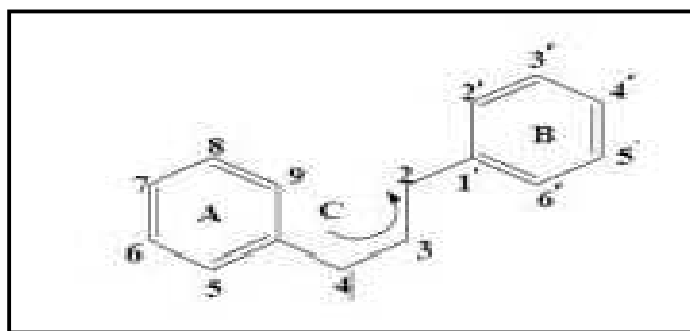


Figure 04 : Squelette de base des flavonoïdes (Erdman *et al.*, 2007).

II.2.3. Classification

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau puranique central, le noyau B est relié à l'hétérocycle C dans la position 2,3 (Figure 5).

- Dans la position 2 : le flavonoïde s'est appelé Flavane
- Si la position 4 de la Flavane porte un groupement carbonyle la Flavane est appelée Flavanone.
- Si la liaison C₂-C₃ dans le squelette de la Flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
- Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle, il est désigné par le Flavonol (Bouakaz, 2006).

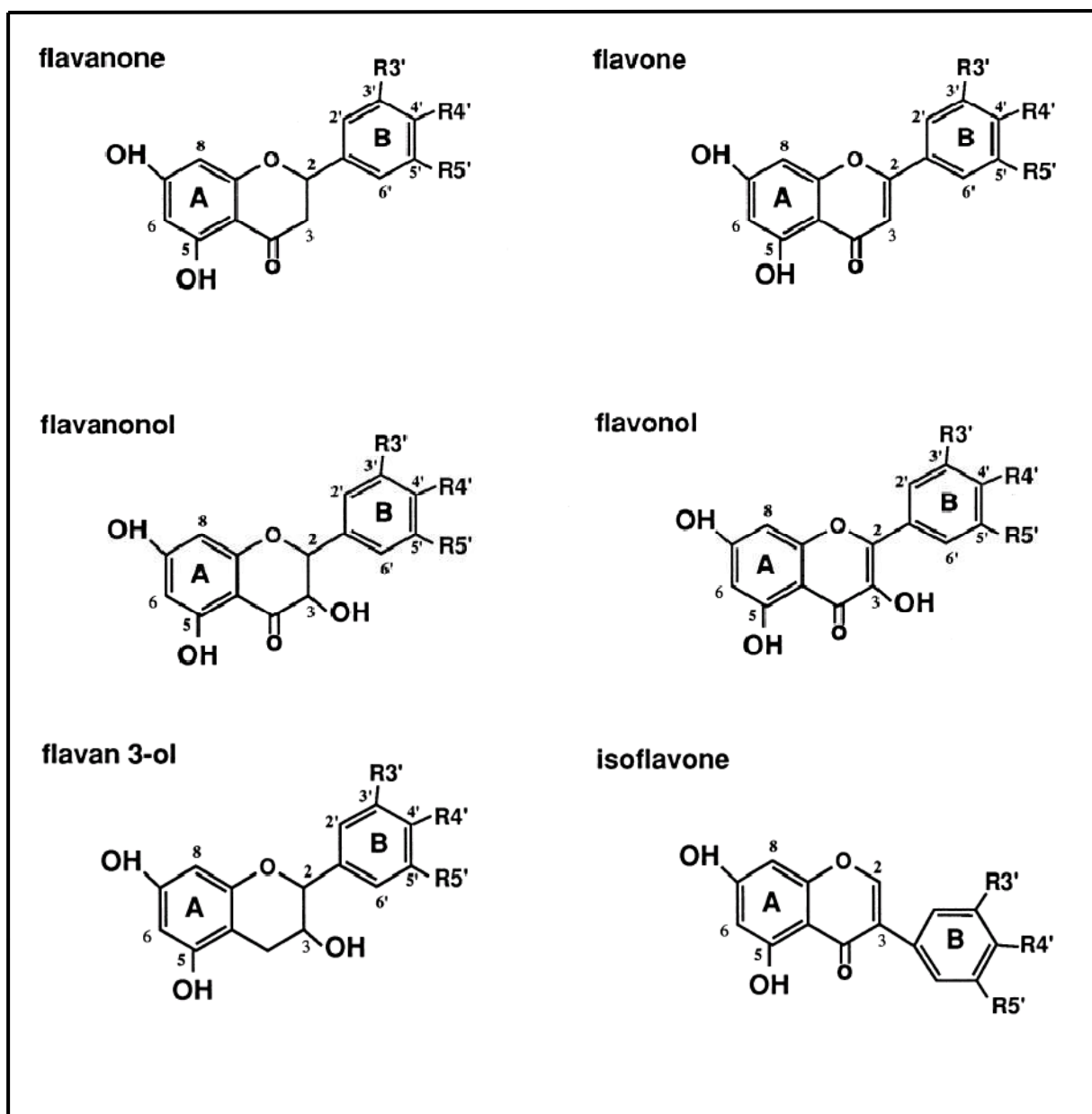


Figure 05 : Structure des différentes classes de flavonoïdes (Gamet *et al.*, 1999)

II.2.4. Localisation

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, graines, bois... (Brunton, 1999).

Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus (Grotewold, 2006). Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles (Grace *et al.*, 1996).

Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes

(nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique). Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments (certaines flavones et flavonols) (Brutton, 1999) (Grace *et al.*, 1996).

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophile. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (Brutton, 1999).

II.2.5. Propriétés botaniques

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes, puis ils migrent et se dissolvent dans les vacuoles. Ils interviennent comme constituants des chromoplastes (Brutton, 1999).

La plante synthétise des flavonoïdes pour se protéger de l'oxydation et c'est le rayonnement solaire qui stimule cette réaction. Plus l'ensoleillement important plus les teneurs en flavonoïdes augmentent surtout dans les parties exposées.

Parmi ces flavonoïdes, il y a certains attirent l'attention des insectes pollinisateurs, ou au contraire à dessiner des formes pour éloigner les prédateurs, d'autres sont mêmes toxiques pour la santé.

II.2.6. Distribution

Les flavonoïdes sont généralement présents chez les végétaux supérieurs, le plus souvent sous forme d'hétérosides (liés à différents sucres). Ils ont pu être isolés des fougères (la cytomenetine) (Mazz, 2000), cependant, ils sont totalement absents des microorganismes comme les champignons et les lichens (Ribirean-Gayon, 1968).

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement dans certains végétaux ; on retrouvera par exemple les isoflavons dans le soja (Heller, 1998), les flavanones dans les agrumes, les anthocyanes dans les fruits rouges, les flavonols dans le chou, les brocolis et l'oignon. Ces derniers ont la particularité de polymériser en composées qu'on appelle des tanins qui sont présents dans le vin et le thé.

Le thé contient les principaux flavonoïdes qui sont la rubigine, la flavine et la catéchine, dont les propriétés anti oxydantes sont 20 fois supérieures à celle de la vitamine C.

L'artichaut est le seul dépositaire d'un groupe appelé silymarine. Quatre flavonols sont majoritairement présent dans le raisin : le kaempferol, la quercitrine, la myricetine et l'isorhamnétine. Les dérivés de la quercitrine sont toujours prédominants, alors que la myricetine semble être spécifique aux variétés de raisin rouge. On trouve également de fortes

concentrations de flavonoïdes dans l'hamamélis (kaempferol, quercitine), le céleri (apiosides) et dans le chocolat (catéchine) (Heller, 1998).

II.2.7. Consommation

La prise quotidienne des flavonoïdes est de 14,4 milligramme dont (35,2%) viennent des fruits, (19,1%) des légumes, (16,9%) du vin et (16,0%) du thé (Ramassamy *et al.*, 2006). La quercétine est régulièrement consommée par l'homme car c'est la plus rencontrée dans le régime alimentaire (Tieppo *et al.*, 2007). Leur ingestion diététique est tout à fait haute, comparée à d'autres antioxydants diététiques comme la vitamine C et E (Ramassamy *et al.*, 2006).

II.2.8. Biodisponibilité

Selon Wiseman (1999), la biodisponibilité absolue (%) des flavonoïdes correspond à la proportion des molécules entrant dans la circulation sanguine sous leur forme intacte après leur consommation en passant à travers la paroi intestinale et le foie.

Tous les flavonoïdes à l'exception de la catéchine (Flavonol) sont présents dans les plantes sous forme glycolyse (liée au sucre par la liaison β . Osidique) seuls les aglycones peuvent être absorbés par l'intestin grêle, tandis que les glycosides sont hydrolysés tout d'abord en aglycones par l'intermédiaire de la microflore colique qui dispose des enzymes capables de cliver les liaisons β . Osidiques (Wiseman, 1999 ; Urquiaga et Leighto, 2000 ; Ming, 2007).

Généralement, la flore microbienne métabolise au même temps les aglycones libérés. Des quantités considérables de catéchines polymériques connues sous le nom de proanthocyanidines sont présentes dans l'alimentation. Des études faites par Hollman, (2001), montrent que les formes dimères et trimères de catéchine sont susceptibles d'être absorbés tandis que les polymères à degrés de polymérisation élevés ne peuvent pas être absorbés par la paroi intestinale qu'après leur dégradation.

II.2.9 Métabolisme

Il existe deux compartiments considérablement importants pour le métabolisme des composés phénoliques :

- Les tissus et les enzymes de (foie, reins et intestin grêle) agissent directement sur les flavonoïdes aglycones ainsi que sur les métabolites coliques absorbés.
- Le colon ou la microflore colique dégradent les aglycones libérés (après hydrolyse des glycosides) par ouverture de leur hétérocycle aux différents endroits selon le type de flavonoïde concerné.

Exemple : les flavonols sont dégradés en acide phenylacétique et phenylpropionique (Hollman, 2001).

II.2.10. Propriétés et effets pharmacologique et biologique

Les flavonoïdes présentent un intérêt thérapeutique qui date de la découverte de la vitamine C par Szent-Gyorgyi (Prix Nobel, 1937), chercheur de l'université de Szeged (Hongrie). Il a constaté que les symptômes hémorragiques de scorbut, liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou de jus de citron, riche en vitamine C et en flavonoïdes (Scalbert, 2004).

Les principales propriétés des flavonoïdes étudiées sont les suivantes :

II.2.10.1. Propriété antibactérienne

La thérapeutique des infections bactériennes est basée principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inscription de nouveaux médicaments à base des plantes. Notamment, les composés phénoliques, qui sont toujours utilisés dans les industries alimentaires et cosmétiques, et comme agents antimicrobiens en médecine populaire (Zeghad, 2009).

De nombreux flavonoïdes possèdent des propriétés antibactériennes. Des synergies ont été mises en évidence pour certaines de ces molécules. Des études in vivo sur des animaux sont révélées encourageantes (quercétine chez le cochon d'inde infecté par les *Shigella*). Ils agiraient à plusieurs niveaux, il semblerait que le cycle B joue un rôle important dans l'intercalation avec les acides nucléiques et inhiberait ainsi la synthèse d'ADN et d'ARN.

En outre, la myricétine empêche la croissance de la *Burkholderia cepacia* multi-résistante, *Enterococci* vancomycine-résistante, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus epidermidis* (Hodek *et al.*, 2002).

Les flavanones et quelques dihydroflavonols empêchent la croissance de *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus*. La sophoroflavonone G, certaines catéchines (flavan-3-ol) et la quercétine possèdent un effet antibactérien en provoquant un changement de la perméabilité membranaire (Laouini, 2014).

Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs *in vitro* sur l'ADN gyrase (Ohemeng *et al.*, 1993). Une étude réalisée par Sato *et al.*, (1995), ont montré l'effet bactéricide de différentes flavanones vis-à-vis du *Staphylococcus aureus*. Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe.

Parmi les hypothèses avancées, nous citons :

- L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes.
- La séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tel que le fer.
- L'inhibition du métabolisme microbien.

II.2.10.2. Propriété antivirale

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale de cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux de cycle viral. Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales.

Ce mécanisme semble être impliqué dans la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours (Vrijesen *et al.*, 1987). Mucsi et Pragai (1985), ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées.

Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). De nombreux agents sont susceptibles d'inhiber la réplication du rétrovirus du SIDA par une inhibition de la reverse transcriptase.

Toutefois, ils peuvent être toxiques pour l'organisme. L'impact des flavonoïdes sur la « reverse transcriptase » comme de bons inhibiteurs de cette enzyme a été démontré par

Spedding *et al.*, (1989). Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale (Ono *et al.*, 1990).

Récemment, des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV (la gp120), empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte (Mahmood *et al.*, 1993).

Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1. Cette enzyme permet l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte. Des études structure-activité devraient permettre de montrer quelles sont les molécules les plus actives (Fesen *et al.*, 1994).

En fait, il semble que l'intérêt éventuel des flavonoïdes ou d'autres micronutriments pour combattre le virus de SIDA n'ait pas été suffisamment approfondi.

II.2.10.3 Activité antifongique

Aussi, comme la majorité des polyphénols, les flavonoïdes ont une activité antifongique très puissante. L'une des études les plus importantes sur cette activité était celle d'Ortuno et ses collaborateurs (2006). Ils ont démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones extraites de *Cirtus parasidi* et de *Cirtus sinensis* sur *Penicillium digitatum*.

En effet, la naringinine, l'hespéridine, la nobilétine, la simensetine et la tangerétine extraites de ces deux espèces de *Cirtus* servent à protéger ces dernières contre les attaques de *Penicillium digitatum* (Ortuno *et al.* 2006).

Batawita et ses collaborateurs (2002), dans leur étude sur les flavonoïdes de *Conyza aegyptica L.*, ont aussi démontré que, ces molécules avaient une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses : *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*,

Trichophyton mentagrophytes et *Candida zeylanoïdes*. D'autres flavonoïdes extraits de *Tibouchina grandifolia* ont présenté une forte activité antifongique contre différents types de moisissures (Kuster *et al.*, 2009). Néanmoins, les études portées sur l'activité antifongique des flavonoïdes restent encore insuffisantes du fait de la grande hétérogénéité des moisissures et des levures.

II.2.10.4 Propriété anti-inflammatoire

Une inflammation par définition est une réaction de défense immunitaire stéréotypée du corps à une agression (infection, brûlure, allergie...) qui se manifeste par un gonflement une sensation de chaleur, une douleur qui semble pulser (Zeghad, 2009).

De nombreux travaux signalent que, les flavonoïdes possèdent la propriété anti-inflammatoire (Da silva *et al.*; Galati *et al.*, 1994) (Read,1995) et qu'ils sont capables de

moduler le fonctionnement du système immunitaire (Yang *et al.*, 2008), ce sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (Mookerjee, 1986 ; Namgoong, 1994). Les effets peuvent être variables.

Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération de l'histamine des basophiles et des mastocytes (Middleton, 1984).

Des recherches récentes ont démontré que, les flavonoïdes notamment les flavonols du cacao, peuvent prévenir la douleur musculaire en accélérant la réparation des tissus au niveau moléculaire. De manière spécifique, ils éliminent la synthèse de l'oxyde nitrique, déclencheur chimique de l'inflammation.

Il a été également démontré que, d'autres flavonoïdes inhibaient la sécrétion des mastocytes impliqués dans les phénomènes inflammatoires (Fleuriet *et al.*, 2005), cette activité concerne de nombreux composés phénoliques et en premier lieu l'acide salicylique sous sa forme acétylé (acétyl salicylique) commercialisée sous le nom d'aspirine. Ainsi que, certains anthocyanes la cyanidine extraite de cerises, les flavonoïdes des agrumes (Manthey, 2005).

II.2.10.5. Propriété antiulcéreuse

Dans des expériences réalisées par Dicarlo *et al.*, (1999) sur des rats, ils ont démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction d'ulcère et la protection des cellules gastriques. Ils ont suggéré que la quercétine exerce une activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes.

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel.

En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement due à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes (Izzo, 1996).

II.2.10.6. Propriété antioxydante

Les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des puissants antioxydants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (Van-Acker *et al.*, 1995).

En effet, les flavonoïdes sont aussi des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus peroxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique, puisqu'ils la

préviennent comme l' α -tocophérol. Ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (Laughton *et al.*, 1989 ; Puppo, 1992).

De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux tels que le cuivre et le fer, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss (Puppo, 1992 ; Van acker *et al.*, 1995).

Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (Laughton *et al.*, 1989; Dewhalley *et al.*, 1990).

II. 2.10.7 Effet anti cancérigène

Le cancer se présente habituellement comme une tumeur formée d'une masse cellulaire due à une série de transformation pouvant se dérouler pendant plusieurs années, donc la cancérogenèse est un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et finalement à un stade précoce de cancer (Pincemail *et al.*, 1999).

Depuis longtemps, on associe le cancer aux types d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que, les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voir empêcher l'apparition de certains cancers, en réduisant d'une manière spécifique le risque d'en avoir chez les sujets humains (Decloitre, 1993 ; Hertog, 1996).

D'autres études montrent que, certains flavonoïdes particulièrement la quercétine et la catéchine inhibent d'une façon marquée la lipogénèse des cellules cancéreuses, d'autres flavonoïdes sont plutôt capables d'induire l'apoptose (Zeghad, 2009).

La quercétine prévient la cancérogène, surtout le cancer de la peau et de colon. La présence de 20% de quercétine dans l'alimentation chez les animaux diminue le cancer de côlon et y prévient l'apparition des cryptes anormales. Le mécanisme suggéré est ce que la quercétine joue le rôle d'un antagoniste des topoisomérases I et II produites par les cellules tumorales (Pitta, 2000).

La catéchine, quant à elle, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxycydesoscyguanosin (8-OHdG) considérée comme étant un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN. De même la catéchine a été démontrée comme étant plus active que la vitamine E sur les radicaux libres (Tomofuji *et al.* 2009; Pietta, 2000).

II.2.10.8 Effet cardiovasculaire

Récemment, beaucoup d'études ont été concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée sur les maladies de cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes (Xu *et al.*, 2007).

Parmi les 17 flavonoïdes examinés par Xu et ses collaborateurs (2007), les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, kaempferol et la génisteine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire.

Les flavonoïdes ont un effet cardio-protecteur en modifiant plusieurs processus pathologiques qui interviennent dans l'apparition des maladies cardiovasculaires.

Ces effets sont notamment les suivants :

- Inhibition de l'oxydation du cholestérol LDL (mauvais cholestérol) par les radicaux libres, étape initiale importante dans la formation de la plaque d'athérome.
- Abolition de la tendance des cellules sanguines de petite taille ou plaquettes à se regrouper et à former des caillots sanguins. Cet effet est souvent décrit comme « l'effet aspirine ».
- Régulation des réponses inflammatoires et immunitaires au niveau de la paroi des vaisseaux sanguins qui peut être anormale en cas de maladie cardiovasculaire.
- Régulation du tonus vasculaire ou degré de constriction des petits vaisseaux sanguins qui contribue à l'hypertension (Ariefdjohan et Savaiano 2005; Ding, 2006).

II.2.10.9 Intérêt des flavonoïdes contre l'obésité

Certains flavonoïdes sont supposés apporter un intérêt dans le métabolisme lipidique en diminuant la lipidémie. Les effets de quelques flavanones (la naringénine, la naringine, l'hespérétine et l'hespéridine) sur la conversion des pré-adipocytes en adipocytes et sur la lignée cellulaire AML-I ont été étudiés (Morikawa *et al.*, 2008). Les deux flavonoïdes sous forme aglycone, à savoir la naringénine et l'hespérétine, ont induit un arrêt de la croissance des cellules entraîné par une apoptose.

L'impact de la naringénine sur différentes protéines impliquées dans l'apoptose a été déterminé. Le résultat a révélé que dans les cellules traitées avec ce flavonoïde, les taux de protéines anti-apoptotiques (p-Akt, NF- κ B, et Bcl-2) étaient diminués, et ceux de Bad (protéines pro-apoptotiques) augmentés. L'exposition des cellules à la naringénine ou à l'hespérétine durant de courtes périodes a augmenté la taille des gouttes lipidiques dans le cytoplasme.

De plus, l'expression de la fatty acide synthase (intervenant dans la synthèse des acides gras) et des PPAR- γ a été augmentée dans les cellules traitées à la naringénine. Ces résultats suggèrent que l'apoptose induite par les flavanones n'intervient pas dans la conversion des pré-adipocytes en adipocytes. De ce fait, les adipocytes sembleraient ne pas être une cible directe pour les activités hypolipémiantes des flavanones (Morikawa et *al.*, 2008).

Chapitre III

Cinétiques et procédés de séchage

III.1. Définition du séchage

C'est l'opération unitaire ayant pour but d'éliminer par évaporation un liquide imprégnant un solide ou un liquide. Le terme déshydratation a un sens plus restrictif : il ne concerne que l'élimination de l'eau dans un solide ou dans un liquide (Chalal, 2007).

Le séchage est une opération consistant à abaisser l'activité du liquide d'un produit, jusqu'au seuil en deçà duquel les réactions enzymatiques et d'oxydation sont inhibées, de même que le développement des microorganismes (Gauthier, 1990).

III.2.Principe du séchage

La première idée qui vient à l'esprit pour sécher un produit est de le porter à la température d'ébullition de l'eau, qui alors se vaporise. En réalité, ce principe n'est pas le plus employé et l'on préfère souvent opérer à température moins élevée en utilisant l'air comme gaz d'entraînement. (Bimbenet, 1978).

III.3. Différents types de séchage

III.3.1. Séchage naturel (traditionnel à l'air libre)

Le séchage traditionnel est la méthode la plus commune et fondamentale. Il permet la conservation des qualités médicinales et nutritionnelles des plantes (Ouafi *et al*, 1999).

Cette méthode se pratique simplement, en exposant les produits au rayonnement direct des rayons solaires. Ainsi le produit est étalé sur la terre, sur les rocs, les toits des maisons, directement à même le sol ou sur des nattes.

Cependant, le séchage solaire traditionnel présente plusieurs inconvénients :

- Le produit est exposé à l'air libre, à la poussière, aux mouches et insectes et aux autres rongeurs ouvrant la voie à des souillures et contaminations variées.
- La durée de séchage est longue et peut atteindre plusieurs jours, d'où une très mauvaise qualité des produits : contaminations multiples, réhydratation de nuits et en cas de temps nuageux.
- La méthode est assez contraignante et demande beaucoup de travail. En effet, il faut à chaque fois retourner le produit pour assurer un séchage uniforme, chasser les animaux, tourner et ramener la récolte le soir ou quand il pleut.
- Couleur foncée des produits qui perdent beaucoup de leurs composants nutritifs, en particulier les vitamines (Ouaouich *et al* ., 2005).

III.3.2. Séchage artificiel (à air chaud)

Le séchage artificiel permet, dans une certaine mesure, de pallier les inconvénients du séchage naturel : il permet de réduire considérablement la durée du séchage et d'atteindre l'humidité souhaitée des matériaux.

Pour ce mode de séchage, le produit est mis en contact direct avec l'air chaud circulant dans la chambre de séchage (étuve, séchoir). La chaleur est apportée par un gaz caloporteur (Air chaud), qui va servir à la fois de fluide chauffant et de gaz vecteur de la vapeur d'eau ainsi enlevée au produit, par un transfert croisé (Bimbenet, 1994).

Les méthodes de séchage les plus utilisées dans l'industrie sont les suivantes :

- * Le séchage par air chaud ou séchage 'traditionnel'.
- * Le séchage à la vapeur surchauffée.
- * Le séchage par pompe à chaleur.
- * Le séchage par chambre chaude.
- * Le séchage sous vide.

Trois modes de séchage peuvent être distingués :

➤ **Séchage mécanique**

C'est l'élimination du liquide par des forces purement mécaniques (pressage, centrifugation,...).

Certains processus de pré concentration et de pré séchage peuvent se réaliser sans transfert thermique mais par simple transfert de quantité de mouvement.

➤ **Séchage chimique**

C'est un procédé basé sur l'utilisation de produits déshydratants (chlorure de calcium,...) afin d'en extraire l'eau.

➤ **Séchage thermique**

Ce type d'opération est essentiellement un transfert de masse nécessitant au préalable une «activation» de l'eau par une certaine quantité d'énergie apportée par ce transfert de chaleur. Les deux transferts se dédoublent en une phase externe et une phase interne :

- Transfert de chaleur interne, de la source de chaleur vers la surface du produit.
- Transfert de chaleur interne, de la surface vers le cœur du produit.
- Transfert de masse interne, du cœur vers la surface du produit.
- Transfert de masse externe de la surface du produit vers le milieu extérieur.

Le séchage thermique se divise lui même en deux types :

➤ Séchage par ébullition

L'ébullition d'un liquide se produit lorsque sa température est telle que la pression de vapeur P de l'eau de ce liquide est égale à la pression totale ambiante.

L'ébullition proprement dite (formation de bulles de vapeur d'eau) est plus difficile à observer sur les solides ou les corps pâteux contrairement aux liquides.

L'allure à laquelle s'évapore l'eau est déterminée par l'allure d'apport de la chaleur latente d'évaporation. Cet apport est effectué :

- * Par conduction, à partir d'une surface chauffée au contact du produit.

- * Par génération interne de chaleur due à l'exposition à un rayonnement infrarouge ou de micro-ondes ou par un chauffage dit électrique.

- * Par convection, à partir de vapeur d'eau surchauffée ou d'un liquide chauffant. (Roux, 1994).

➤ Séchage par entraînement

Lorsqu'un corps humide est placé dans un courant d'air (ou dans un autre gaz) suffisamment chaud et sec, il s'établit spontanément entre ce corps et l'air un écart de température et de pression partielle d'eau tels que :

- * Un transfert de chaleur s'effectue de l'air vers le produit sous l'effet de l'écart de température.

- * Un transfert d'eau s'effectue en sens inverse du fait de l'écart de concentration en eau dans l'air.

Le gaz caloporteur est réchauffé à une température initiale T_1 cédant ainsi une partie de chaleur et il sortira de l'appareil à une température finale $T_2 < T_1$ (Mafart, 1981).

III.4 Cinétique de séchage

III.4.1. Définition

C'est l'étude de la variation de la teneur en eau et de la vitesse de séchage en fonction du temps dans différents paramètres aérothermiques (Belghit *et al*, 1999).

L'expérience de base consiste à placer le produit dans un courant d'air parfaitement maîtrisé (température, humidité, vitesse) et à enregistrer l'évolution de la masse par pesage à intervalles de temps réguliers.

III.4.2. Méthodologies d'obtention des courbes de séchage

L'obtention de la courbe caractéristique de séchage, et le calcul du flux massique d'eau nécessitent la connaissance de la vitesse de séchage.

III.4.2.1. Calcul de la vitesse de séchage

L'acquisition des données expérimentales sur la masse du produit permet de représenter la courbe donnant la perte de masse (kg) en fonction du temps (s). Cependant on a coutume d'utiliser la teneur en eau du produit sur base sèche (X , kg d'eau/kg de masse sèche) et non la masse, pour tracer la courbe de séchage.

Selon l'usage, ces données sont transformées afin de tracer soit la courbe de vitesse de séchage soit la courbe dite de Krischer (Kemp *et al.*, 2001), selon que la vitesse de séchage ($-dX/dt$) est représentée en fonction du temps ou de la teneur en eau sur base sèche.

La dérivation de la courbe de séchage peut s'avérer délicate lorsque cette courbe est « bruitée ». En effet cette opération est sensible « au bruit » et accentue celui-ci (Christophe., 2003). Pour éliminer ou réduire ce « bruit », il est nécessaire d'effectuer des opérations de lissage ou de filtrage.

III.4.2.2. Méthode de détermination de la courbe caractéristique de séchage

L'intérêt de cette courbe est important, il suffit de connaître les valeurs de la teneur en eau initiale et d'équilibre pour pouvoir décrire la cinétique du séchage dans n'importe quelle condition de l'air.

Le principe de la courbe caractéristique de séchage est de réduire l'ensemble des données expérimentales de manière à pouvoir les mettre sous forme utilisable non seulement par l'expérimentateur lui-même ; mais aussi par l'ensemble de la communauté scientifique (Van Meel., 1958). Pour y parvenir, la démarche suivie consiste en une normalisation en représentant le rapport de la vitesse de séchage en un instant t ($-dX/dt$) à la vitesse de première phase ($-dX/dt$)₁, dans les mêmes conditions de l'air en fonction de la teneur en eau réduite (Kechaou., 2000).

III.5. Les différentes phases de séchage

La vaporisation de l'eau s'effectue en surface du produit. Le transfert de l'eau de l'intérieur vers la surface du produit conditionne fortement la vitesse de séchage et explique la forme des courbes d'évolution en fonction du temps.

De fait, pour comprendre les phénomènes de migration de l'eau dans les produits humides, on doit considérer simultanément les transferts des masses et de chaleur dans toutes les phases (solides, vapeurs et liquide), qui tiennent tour à tour un rôle prépondérant (Touati, 2008).

Deux types de courbes permettent de décrire la variation de produit au cours de séchage

(Figure06) :

(a) : Variation de la teneur en eau de produit au cours du temps $X=X(t)$.

(b) : Variation de la vitesse de séchage au cours du temps $dX/dt=f(t)$.

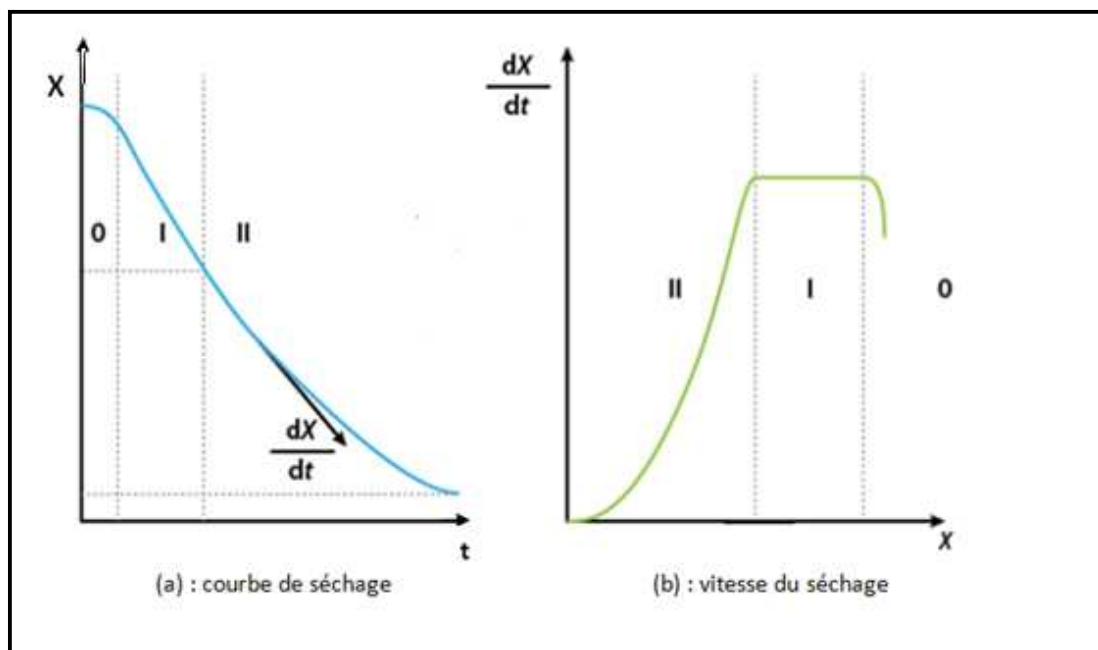


Figure 06 : Courbes théoriques caractérisant un séchage par entrainement (Djebnoun, 2011)

Phase 0 : période de mise en température

Quand un produit à une température de surface T_s est brassé par un courant d'air chaud des échanges de chaleur et de matière ont lieu entre le produit et l'air asséchant.

Pour être emportées sous forme de vapeur les quantités d'eau contenues dans le produit exigent un apport correspondant de l'énergie de vaporisation.

L'excès de chaleur fournie par l'air amène le produit à s'échauffer d'avantage ce qui aboutit à un équilibre du bilan de chaleur. Si par contre, la température de surface du produit est trop élevée, le déficit énergétique entrainerait un refroidissement du produit.

La période de mise en température est courte et n'apparait véritablement que si les produits sont de grande taille, ou si la différence de température entre l'air et le produit est importante, ce qui explique le peu d'intérêt manifeste par les chercheurs dans l'étude de cette phase (Touati, 2008).

Phase I : période à allure ou vitesse de séchage constante

Cette phase n'existe que si une pellicule d'eau libre existe en surface du produit. L'activité de l'eau à la surface du produit est alors égale à 1 et le séchage consiste en une évaporation isenthalpique de l'eau. La température de surface du produit correspond à la température humide de l'air asséchant. C'est la température à laquelle le flux de chaleur amené par l'air est égal au flux thermique nécessaire à l'évaporation l'eau. La vitesse de séchage dépend uniquement des conditions externes telles que l'humidité de l'air, sa température séchée et sa vitesse de circulation.

La nature du produit n'intervient pas mais sa forme influe sur le débit d'eau évaporée (Kricher et Kroll, 1963).

Phase II : Période de ralentissement

Cette période est caractérisée par une diminution de la vitesse de séchage. Le ralentissement de la vitesse de séchage est dû aux contraintes de la migration de l'eau de l'intérieur du produit vers sa surface. Plusieurs phénomènes et propriétés sont à prendre en compte (El Hisse, 1987).

- Disparition de l'eau en surface de produit : ce phénomène correspond au début du ralentissement de l'allure de séchage.
- L'épaisseur du produit : si celle-ci est de plus en plus croissante, cela signifie que la vapeur d'eau doit traverser un parcours plus long expliquant ainsi, en grande partie, le ralentissement de séchage.
- La diffusion de l'eau dans le produit : elle varie avec la teneur du produit en eau. Plus ce dernier est sec, moins il devient perméable à l'eau.
- La résistance mécanique des parois cellulaires intactes : les parois cellulaires intactes empêchent la vapeur d'eau de passer en grande quantité à l'extérieur du produit.
- Le croutage : certains composés solubles notamment les sucres et les sels accompagnent l'eau évaporée pendant la période à allure constante (phase I) et cristallisent à la surface. Ce phénomène appelé croutage est à l'origine des fortes concentrations en surface de ces composés solubles qui bouchent les pores du produit. L'accumulation et l'assèchement de ces solutés imperméabilisent la surface du produit.

Cette phase dépend essentiellement des propriétés du produit et de la diffusion de l'eau dans les produits, l'influence des conditions d'écoulement de l'air asséchant est secondaire.

Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériel et méthodes

IV.1. Cadre de l'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein de l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou (UMMTO) au niveau des laboratoires pédagogiques des analyses physicochimiques et microbiologiques.

IV.2 .Objectifs de l'étude

Les objectifs ambitionnés à travers cette étude sont :

- ✓ Caractérisation physico-chimique de fruit *Pyracantha coccinea*.
- ✓ Cinétique de séchage de fruit *Pyracantha coccinea* à air libre et à air chaud à la pression atmosphérique à deux températures 65 et 75°C.
- ✓ Fractionnement et quantification des flavonoïdes des poudres obtenues.
- ✓ Activités biologiques des extraits phénoliques de ce fruit.

IV.3 .Matériel

IV.3.1.Appareillages et réactifs

Tous les appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture sont présentés dans l'annexe 1.

IV.3.2.Matériel végétal

L'espèce *Pyracantha coccinea* utilisée dans cette étude est cultivée dans la région de Boumerdès récoltée en Mars 2016. Une fois cueillir, le fruit est transporté aux laboratoires d'analyses afin de lui faire les premières opérations unitaires (triage, parage, calibrage, et rinçage à l'eau et conservation au réfrigérateur).

IV.3.2 Matériel biologique

Les tests de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques des poudres de fruit séché à air libre et air chaud (65°C, 75°C) sont effectués sur 8 souches bactériennes pathogènes de référence, une levure et une moisissure (Tableau I). Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Université de Tizi-Ouzou.

Tableau I : souches utilisées

La souche	Type	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie Gram Négatif	ATCC 25322
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie Gram Négatif	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie Gram Négatif	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bactérie Gram Négatif	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie Gram Positif	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie Gram positif	/
<i>Candida albicans</i>	Levure	/
<i>Aspergillus Niger</i>	Moisissure	/

IV.4 Méthodes

IV. 4.1 Cinétique séchage

Par définition, le séchage est une technique de déshydratation visant à débarrasser un mélange homogène ou hétérogène d'un constituant liquide.

Sécher un produit consiste à apporter l'énergie nécessaire à la vaporisation de l'eau du produit (chaleur latente de vaporisation), puis à évacuer la vapeur formée. Le but d'une telle opération est, soit de rendre à une substance traitée ses qualités mécaniques ou physicochimiques soit de faciliter le stockage et sa conservation (Boulemtafes, 2011).

Deux procédés de séchage de fruit *Pyracantha coccinea* ont été étudiés à savoir : l'air chaud à la pression atmosphérique à deux températures (65 et 75°C), et l'air libre.

Le séchage à air chaud a été réalisé dans une étuve (sans ventilation à air sec) deux températures de séchage ont été choisies (65 et 75°C) (Espiard, 2002). Selon cet auteur, les deux températures permettent de conserver les qualités initiales des produits séchés.




Le séchage à air libre a été réalisé sur une surface ouverte à l'ombre, et à l'abri de la poussière dans des endroits bien aérés, la température de séchage est comprise entre 20 et 22°C.

Les conditions expérimentales suivies sont présentées dans le tableau II.

Le temps de séchage pour atteindre une humidité finale de l'ordre de 4% varie d'une semaine jusqu'à 15 jours en séchant à l'air libre et de 6 à 7 heures à air chaud. A la fin du séchage les échantillons séchés sont broyés et tamisés à l'aide d'un tamis de taille de mailles de 500µm.

Les différentes poudres obtenues sont conservées dans des flacons en verre à l'abri de l'humidité et de la lumière.

Tableau II : Séchage de fruit *Pyracantha coccinea* par les deux procédés.

	Conditions de séchage	Moyen de séchage
Séchage à air chaud dans l'étuve à 65°C	<ul style="list-style-type: none"> • Mesurer 03 échantillons de 50g de fruit ; • Etaler le fruit sur un papier aluminium ; • Mesurer le poids chaque 15 minutes à l'aide d'une balance de précision 0,01 jusqu'à atteindre un poids constant ; • Etablir une courbe. 	
Séchage à air chaud dans l'étuve à 75°C		
Séchage à air libre	<ul style="list-style-type: none"> • Mesurer 03 échantillons de 50g ; • Etaler le fruit sur un papier aluminium ; • Mesurer le poids chaque 24h à l'aide d'une balance de précision jusqu'à avoir un poids constant à deux reprises ; • Etablir une courbe. 	

IV. 4.2 Caractérisation morphologique de fruit

IV.4.2.1. Mesure de diamètre

Cette mesure se pratique sur la zone équatoriale de fruit. Le diamètre moyen (mm) est déterminé sur 10 fruits à l'aide d'un pied à coulisse.

IV.4.2.2 Mesure de poids moyen

Pour notre fruit, la pesée a été faite sur un échantillon de 10 fruits et le poids moyen de fruit est calculé par cette formule :

$$P_m = \frac{P_t}{n} \dots\dots\dots(1)$$

Soit :

P_m : poids moyen d'un fruit ;

P_t : poids total de l'échantillon ;

n: nombre de fruit.

IV.4.3. Analyse phytochimique de fruit

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre de fruit *Pyracantha coccinea* a été faite selon les méthodes standards de screening photochimique (Dohou *et al.* , 2003 ; Kumar *et al.*, 2010).

La quantité de la substance recherchée est proportionnelle soit à l'intensité du précipité formé (la turbidité) ou l'intensité de la couleur.

IV.4.3.1. Préparation de l'infusé

- 20 g de la poudre sont macérés dans 100 ml d'eau distillée ;
- Porter le mélange à l'ébullition pendant 15 min puis filtrer ;
- Le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

L'infusé ainsi obtenu a été utilisé pour la recherche des différents composés chimiques à savoir:

❖ Les anthocyanes

Introduire dans un erlenmeyer 5 ml de l'infusé, puis on lui ajoute quelques gouttes d'HCl. Une réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

❖ Les tanins

Quelques gouttes de la solution de $FeCl_3$ (5%) sont ajoutées à 5 ml de l'infusé.

La présence des tanins est identifiée par une coloration bleue noire de la solution.

❖ Les tanins galliques

On sature le filtrat par l'acétate de sodium (CH_3COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl_3 . La réaction est dite positive lorsque la coloration bleue foncée apparaît.

❖ Les flavonoïdes

5ml d'HCl, un cristaux de Mg et 1 ml d'alcool iso butanol sont ajoutés à 5 ml de l'infuse

La réaction est dite positive lorsque la coloration est rouge oranger.

❖ Les saponosides

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5 ml d'HCl, dans l'autre 5 ml NaOH ;

On introduit dans chacun deux à trois gouttes de l'infusé, ensuite on l'agite verticalement pendant 30 secondes et laisser reposer 15 min. Une réaction positive est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

1^{er} cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes, le même volume de la mousse.

2^{eme} cas : Si la plante contient des saponines tri terpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par stabilité et par volume.

❖ Les quinones libres

2 ml d'HCl (1N) et 20ml de chloroforme sont ajoutés à 2 g de la poudre végétale, puis on laisse le mélange pendant 3 heures. Après filtration, on ajoute 5 ml d'ammoniaque diluée par l'eau distillée.

La réaction est dite positive lorsque la coloration rouge violette apparaît.

❖ Les quinones combinées

5 ml d' H_2SO_4 (2N) ont été ajoutés à 2g de la poudre, on porte le mélange à reflux pendant 2 heures. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre. Par la suite, 20 ml de chloroforme sont ajoutés au filtrat, puis on évapore la solution à sec, et reprise à l'ammoniaque. La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge se manifeste.

❖ Les alcaloïdes

20 ml d'ammoniaque (1/2) et 50 ml du mélange éther –chloroforme (3/2 V :V) ont été ajoutés à 5g de la poudre. Le filtrat obtenu est épuisé par HCl (2N). L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendroff qui donne un précipité rouge.

❖ Les glucosides

Quelques gouttes d' H_2SO_4 ont été ajoutées à 2g de la poudre de fruit. Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence de glucosides.

❖ Les coumarines

20 ml du mélange (éthanol / eau distillée V : V) sont ajoutés à 2g de la poudre. Bouillir la suspension obtenue pendant 15 min à reflux puis filtrer et laisser refroidir.

L'identification des coumarines se fait par l'ajout de 10 gouttes de la solution KOH (10%) à 3 ou 5 ml de filtrat et quelques gouttes d'HCl à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu fortement acide. L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

❖ Les sennosides

On introduit 2,5 g de la poudre de fruit dans une fiole conique plus 50 ml d'eau distillée plus 2ml d'HCL concentré. Chauffage au bain-marie pendant 15 min. Refroidir puis ajouter 40 ml d'éther.

On sépare la phase organique étherée de la phase aqueuse. On sèche la phase étherée sur sulfate de sodium anhydre ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \text{H}_2\text{O}$). Ensuite on évapore. Lorsque le résidu est refroidi, on lui ajoute 5 ml d'ammoniaque (1/2).

La présence des sennosides est identifiée par une coloration jaune ou orange de la solution. Le chauffage de cette solution au bain- marie pendant 2 min donne une coloration violette rouge.

IV.4.4.Caractérisation physico-chimique de fruit***IV.4.4.1. Détermination de la teneur en eau******Principe***

Le séchage de fruit a été réalisé dans une étuve sans ventilation d'air de type Mammert à $105 \pm 03^\circ\text{C}$ jusqu'à avoir un poids constant.

Mode opératoire

La détermination de la teneur en eau se fait de la manière suivante:

- Peser les capsules en aluminium ;
- Tarer les capsules ;
- Peser dans chaque capsule 100g de l'échantillon, et les placer dans l'étuve ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans un dessiccateur, après refroidissement, on les pèse, l'opération est répétée chaque 15 minutes jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

Soit :

H(%) : humidité

M₁ : masse de la capsule + la matière fraîche avant séchage en (g) ;

M₂ : masse de la capsule + la matière après séchage (g) ;

P : masse de la prise d'essai en (g).

$$\text{Matière sèche \% : } 100 - H\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

IV.4.4.2. Mesure de pH (NF V 05-108,1997)

Principe

La détermination du pH par la méthode potentiométrique, est réalisée à l'aide d'un pH mètre.

Mode opératoire

- 4g de l'échantillon dans 100ml d'eau distillée chaude ;
- Broyer le mélange et laisser refroidir ;
- Etalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon ;
- Prélever un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode ;
- Noter ensuite la valeur du pH.

Remarque

Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.

IV.4.4.3 Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113,1972)

Principe

Chaque échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

Mode opératoire

- Dans des creusets en porcelaine, peser 10g de l'échantillon ;
- Placer les creusets dans un four à moufle fermé; la température est augmentée progressivement de manière à éviter une calcination violente de produit ce qui

entraînerait des pertes maintenues à une température de $550^{\circ}\pm 15^{\circ}\text{C}$ jusqu'à obtention d'une couleur blanchâtre de poids constant ;

- Retirer les creusets du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

Expression des résultats

La teneur en cendres est calculée par la formule suivante :

$$MO\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

Soit :

MO : matière organique en (g) ;

M_1 : masse de creuset + la prise d'essai en (g) ;

M_2 : masse de creuset après incinération en (g) ;

P : masse de la prise d'essai (g).

$$Tc\% = 100 - MO\% \quad \dots\dots\dots(5)$$

Soit :

Tc : Taux de cendres.

IV.4.4.4. Détermination des éléments minéraux

Principe

La minéralisation est la mise en solution des éléments suivants (Na, K, Mn, Fe, Zn, Cu, Cr, Ni, Cd, Mg, Pb).

Le but de la minéralisation est la reprise de cendres obtenues précédemment sous forme liquide (Audigie, 1978).

Mode opératoire

- Après calcination de 10,5g de matière sèche (le fruit) récupérer les cendres obtenues ;
- Humecter lentement les cendres par 3 ml d'eau bi distillée et 3 ml d'acide chlorhydrique concentré pour assurer une franche réaction acide ;
- Chauffer sur une plaque chauffante douce sans dépasser 250°C jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Laisser reposer quelques minutes ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer 3 à 4 fois à l'eau bi distillée de 30 à 40°C ;

- Incinérer le papier filtre et son contenu pendant une demi-heure à 550°C au maximum dans le four à moufle ;
- Ressortir après refroidissement les capsules ;
- Humecter une deuxième fois par 5 ml d'acide chlorhydrique 37% ;
- Mettre les capsules pour une deuxième fois sur la plaque chauffante jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Ajouter 1ml d'HCl ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans la même fiole jaugée 100 ml et laver avec de l'eau tiède ;
- Amener à 100 ml, en complétant au trait de jauge après refroidissement avec l'eau bi distillée ;
- Mettre 20 ml de cette solution dans des tubes à essai.
- Réaliser l'atomisation à l'aide d'un atomiseur à flamme, la concentration de chaque élément est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalon.

IV.4.4.5 Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101,1974)

Le principe de cette méthode consiste en un titrage de l'extrait de fruit avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1N) en présence de phénophtaléine comme indicateur de couleur.

Mode opératoire

- Peser 10g de l'échantillon ;
- Placer l'échantillon dans une fiole conique, puis on ajoute 70ml d'eau distillée récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;
- Chauffer le contenu au bain marie pendant 30mn ;
- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 100ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée, bien mélanger puis filtrer.
- Additionner 10ml du filtrat à 10ml d'eau distillée ;
- Ajouter trois gouttes de phénophtaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

Expression des résultats

L'acidité titrable est calculée selon la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{175 \times V_1}{V_0 \times M} \quad (6)$$

Soit :

M : masse prélevée en gramme ;

V_0 : volume en ml de la prise d'essai ;

V_1 : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.

IV.4.4.6. Dosage des sucres

Pour ce dosage, on met en évidence trois catégories de sucres à savoir: le saccharose, les sucres totaux et réducteurs.

Avant de lancer les dosages, on prépare deux solutions Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de compositions suivantes :

➤ **Filtrat(1)**

- Peser 10g de l'échantillon dans un bécher de 100ml ;
- Ajouter 2,5ml d'acétate de plomb,
- Remplir jusqu'au 2/3 du volume du bécher avec l'eau distillée ;
- Agiter à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15min ;
- Ajuster avec d'eau distillée à 100ml ;
- Homogénéiser et filtrer sur un papier filtre et récupérer le filtrat.

➤ **Filtrat (2)**

- Prélever 50ml du filtrat(1) et ajouter 5ml d'HCl concentré ;
- Chauffer le mélange au bain marine à 70°C pendant 5 min ;
- Neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphtaléine à 1%.

➤ **Dosage des sucres totaux**

Mode opératoire

- Prélever 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B;
- Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet;
- Chauffer le contenu jusqu'à ébullition durant 2mn ;
- Titrer par le filtrat(2) obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;
- Ajouter 2 gouttes de bleue de méthylène jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée ;
- Noter le volume de filtrat(2) V_2 .

Expression des résultats

La quantité des sucres totaux dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_T = \frac{500}{V \times (V_2 - 0,05)} \times 10 \dots\dots\dots (7)$$

Soit :

S_T : quantité des sucres totaux (g/100ml) ;

V : volume de la prise d'essai ;

V_2 : volume du filtrat(2) utilisé au titrage.

➤ **Dosage des sucres réducteurs**

Mode opératoire

- Introduire 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B dans un bécher de 500ml ;
- Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet ;
- Chauffer le contenu jusqu'à l'ébullition durant 2mn ;
- Titrer par le filtrat(1) jusqu'à ce que la teinte bleue disparaisse ;
- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer le titrage jusqu'à ce que la coloration bleue devienne rouge brique;
- Arrêter le titrage et noter le volume du filtrat(1) dépensé V_1 .

Expression des résultats

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est calculée selon la formule suivante :

$$S_R = \frac{240}{V \times (V_1 - 0,05)} \dots\dots\dots (8)$$

Soit :

S_R : quantité des sucres réducteurs (g/100ml) ;

V : volume de la prise d'essai (ml) ;

V_1 : volume du filtrat(1) utilisé au titrage.

➤ **Taux de saccharose**

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

$$S = (S_T - S_R) \times 0,95 \dots\dots\dots (9)$$

Soit :

S : quantité de saccharose en g/l ;

S_T : quantité des sucres totaux en g/l ;

S_R : quantité des sucres réducteurs en g/l.

IV.4.4.7. Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage direct par méthode iodométrique a été adopté.

Principe

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

Mode opératoire

- Prendre 50ml de filtrat ;
- Ajouter 3ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 0,1N et quelques gouttes d'amidon à 0,5% comme indicateur coloré ;
- Titrer le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue ;

Expression des résultats

La quantité d'acide ascorbique que contient 1l de filtrat est donnée par la formule suivante :

$$Y = N \times 20 \times 4,4 \text{ d'acide ascorbique par litre.} \dots \dots \dots (10)$$

Soit :

N : nombre de ml d'iode versés ;

Y : la quantité de la vitamine C dans l'échantillon (mg/l).

IV.4.4.8. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-ciocalteu (Singleton *et al.* 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3 PW_{12} O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3 PMo O_{40}$).

Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-ciocalteu en un complexe ayant une couleur constituée d'oxyde de tungstène ($W_8 O_{23}$) et de molybdène ($Mo_8 O_{23}$), l'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Biozot et Charpentier, 2006).

Mode opératoire

Le matériel végétal broyé (10g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (50 ml) pendant 72 h puis les extraits sont filtrés (Figure 7).



Figure 07 : Filtration des extraits aqueux et éthanoïques

Le dosage des polyphénols dans chaque extrait est adopté selon le diagramme suivant :

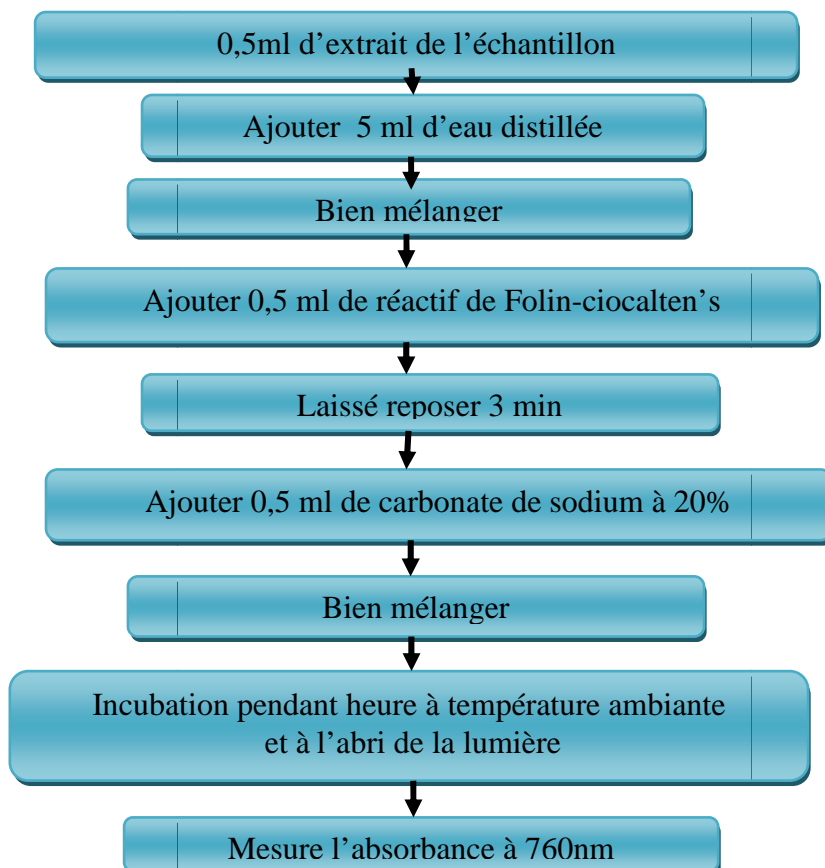


Figure 08 : diagramme de dosage des polyphénols totaux (Singleton *et al.* 1999)

➤ *Courbe d'étalonnage*

La concentration en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage (annexe 2).

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche de plante (mg EAG /g MS).

IV.4.4.9. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Kosalec *et al.* , 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits obtenues (Figure 9).

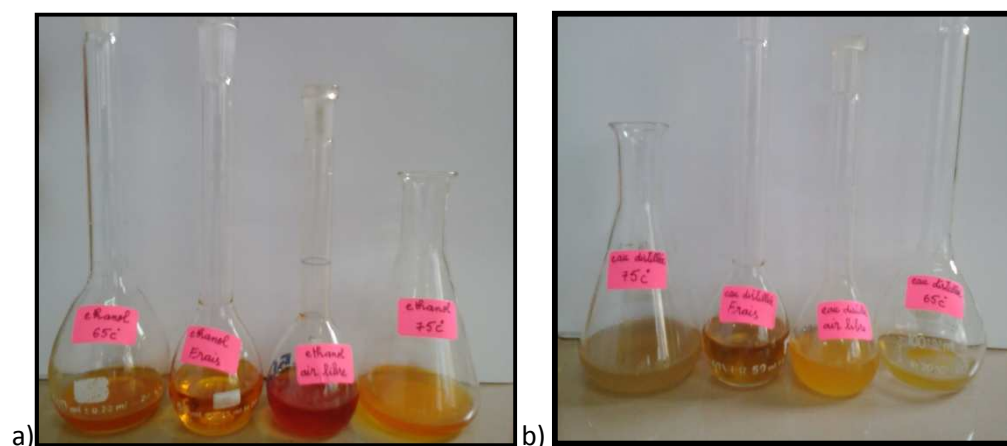


Figure 09 : Différents extraits de flavonoïdes

a) Extrait éthanoïque

b) Extrait aqueux

Le diagramme ci-dessous montre les différentes étapes respectées pour doser les flavonoïdes.

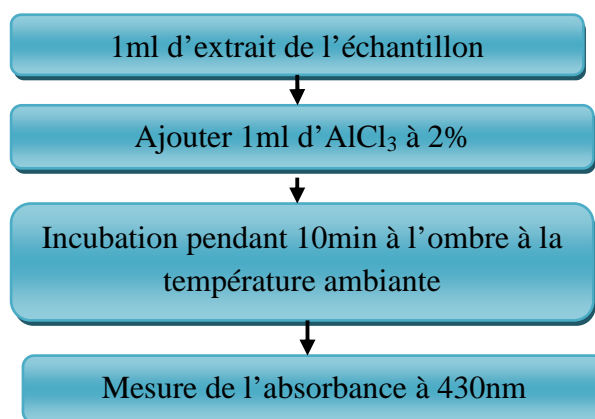


Figure10 : Etapes de dosage des flavonoïdes (Kosalec *et al.* , 2004)

✓ *Courbe d'étalonnage*

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la quercétine comme un flavonoïde standard.

Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de l'extrait.

IV.4.4.10. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats sera appréhendée par la présentation des quantités moyennes des flavonoïdes et de polyphénols extraites par condition d'extraction et solvant utilisé, accompagnées des paramètres de dispersions (coefficient de variation (CV%) intervalle de confiance (d) et erreur relative a la moyenne (dr)), (Dagnetie, 1993), permettant de caractériser les fluctuations de l'échantillon, de situer les résultats moyens dans un intervalle assurant leur répétitivité dans 95% de cas et de vérifier si l'erreur commise ne dépasse pas le seuil biologiquement admis de 10% à 12% et pas là si la taille de l'échantillon utilisé est suffisante.(Annexe 3).

Pour montrer l'effet des conditions d'extractions et des solvants utilisés, l'analyse de la variance (modèle des blocs) sera utilisée pour les flavonoïdes et le test de student pour les polyphénols.

Si l'analyse de la variance révèle des différences significative pour un facteur, il sera procédé à la détermination de groupes homogènes de variantes de ce dernier ; la méthode de la plus petite différence significative (PPDS) sera utilisée mais aussi a la sélection de la ou des conditions d'extraction les plus efficaces ; le test de Gupta-Sobel y sera utilisé (Gnnot, 1969).

Enfin, l'étude de la relation entre la teneur en flavonoïdes et en polyphénols sera réalisée par l'estimation du coefficient de corrélation (R^2) (Carpentier, 1996) (Annexe 3), permettant de caractériser la relation en ce qui concerne sa nature (signe du coefficient) et son importance (valeur de coefficient) et par l'exploration des possibilités de modaliser la teneur en flavonoïde en fonction de celle des polyphénols dans l'objectif de gérer et d'améliorer l'extraction des flavonoïdes .

IV.4.4.11. Fractionnement des flavonoïdes

➤ *Macération*

Les poudres végétales obtenue après séchage à 65°C et séchage à température ambiante est soumise à une extraction par macération dans le mélange éthanol /eau (70/30 : V/V) pendant 24h. Les macéras obtenus sont filtrés à l'aide d'un papier filtre.

➤ *Concentration*

Les filtrats sont concentrés au moyen d'un rotavapeur à une température 60°C. Les résidus secs sont repris dans 20ml d'eau distillée bouillante (l'intérêt de l'utilisation de l'eau bouillante est d'assurer la récupération des composés résiduels sur la paroi du ballon).

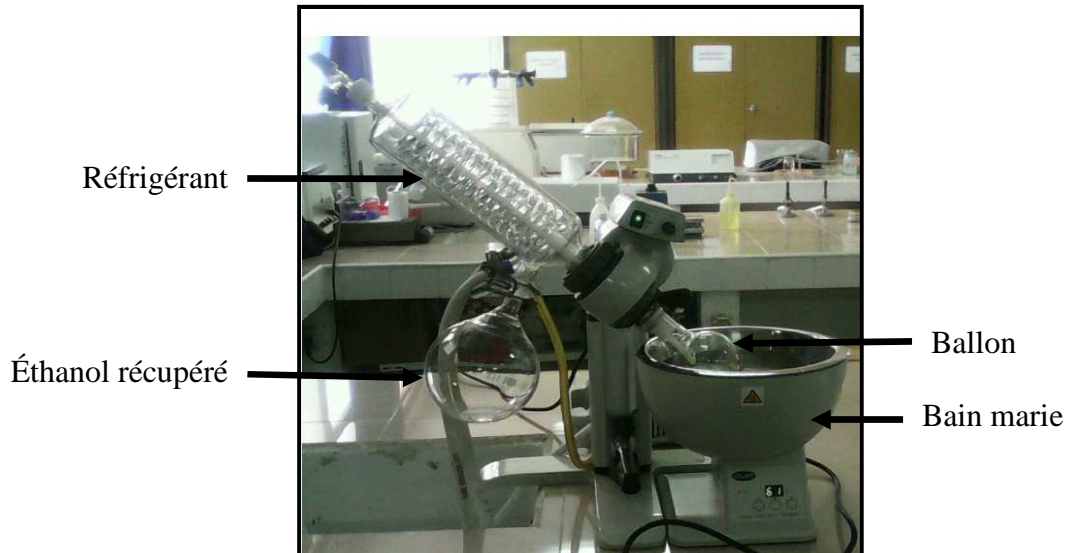


Figure 11 : Concentration des extraits par le rot vapeur.

La phase aqueuse issue d'extraction est placée dans une ampoule à décanter afin de subir des affrontements successifs par différents solvants de polarité croissante.

- *Affrontement par le chloroforme*

30ml de la phase aqueuse sont déversés dans une ampoule à décanter à laquelle on rajoute 30ml de chloroforme.

Après une agitation et un repos de quelques minutes on observe deux phases :

- La phase inférieure (chloroforme+matière grasse).
- La phase supérieure (fraction concentrée en flavonoïdes F_0).



Figure12 : Séparation de la fraction F_0 .

La phase inférieure (matière grasse+chloroforme) est éliminée alors que la fraction F_0 est remise dans l'ampoule à décanter afin de subir l'affrontement par l'éther di-éthylique.

Après décantation, on récupère la fraction aglycone (F1) qui constitue la phase supérieure quant à la phase aqueuse, elle est remise dans l'ampoule à décanter afin de subir les autres séparations pour récupérer les fractions d'acétate d'éthyle et de n-butanol (Figure 13) en respectant les étapes citées dans diagramme de la figure 14.

Les différentes fractions ont été conservées au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

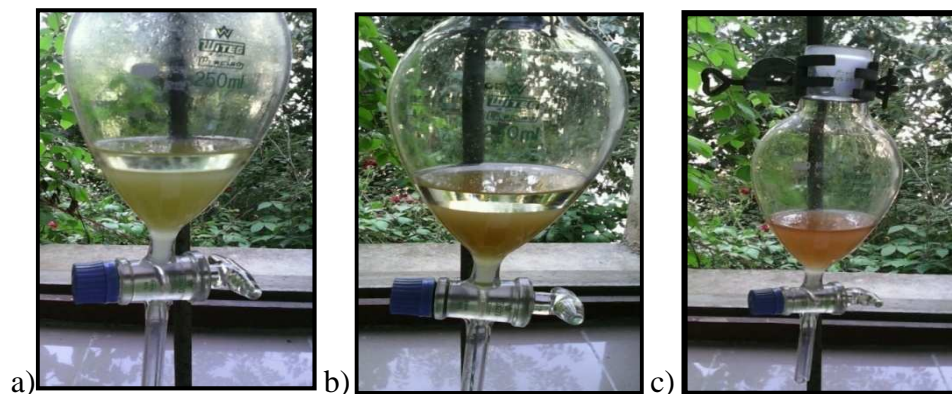


Figure 13 : Séparation des différentes fractions de flavonoïdes de *Pyracantha coccinea*

- a) Fraction éther di-éthylique (F1), b) : fraction acétate (phase supérieure F2) et c) : fraction n-butanol (phase supérieure F3) et la fraction aqueuse (phase inférieure F4)

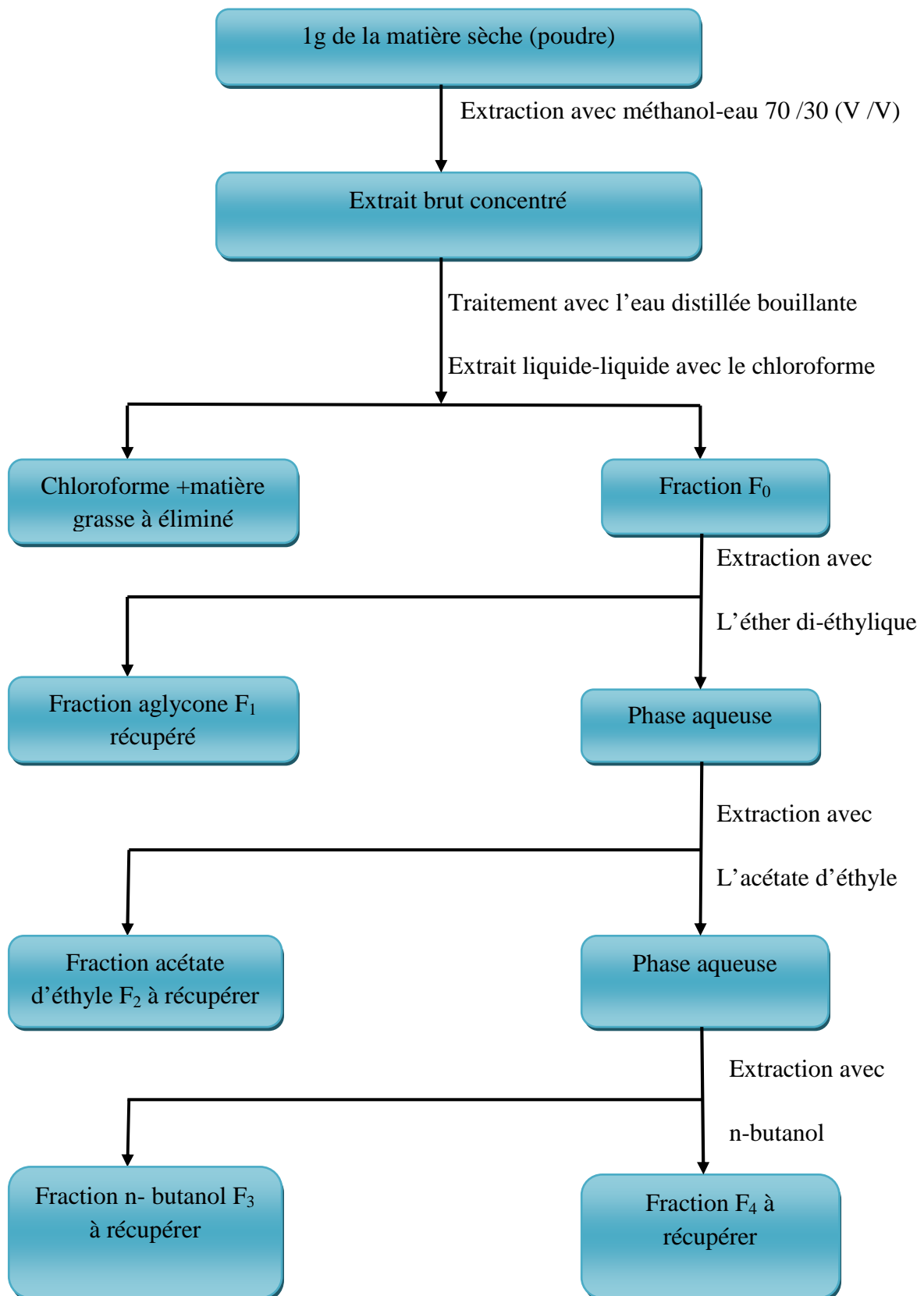


Figure14 : Diagramme de fractionnement des flavonoïdes par des solvants de polarité croissante (Benahmed djilali *et al.*, 2016)

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Kosalec *et al.* , 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différentes fractions obtenues.

IV.4.4.12. Identification et quantification des flavonoïdes par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

L'HPLC repose sur les mêmes principes de base que la CCM, mais d'utilisation plus complexe. Elle nécessite davantage de précautions et coûte nettement plus chère. Cependant, elle permet une amélioration très importante concernant le seuil de détection et de la résolution

(Rouessac *et al.*, 2006).

L'analyse de notre extrait phénolique de *Pyracantha coccinea* par l'HPLC a été menée au niveau de laboratoire de Centre de Recherche et de Développement des Produits Pharmaceutiques CRD El Harrach Alger en suivant le protocole proposé pour la détection des composées phénoliques (Benahmed Djilali *et al.*, (2016).

L'analyse a été effectuée à l'aide d'un appareil d'HPLC marque Shimatzu munie d'une pompe Shimatzu 7100 et d'un détecteur UV Shimatzu (DAD-UV) piloté par le logiciel D.7000 HSM (Shimatzu).

La phase inverse 'RP' (phase stationnaire apolaire) a été utilisée. Elle est composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 18 atomes de carbone.

La colonne HPLC de type LiChrospher RP-C18 (Shimatzu, 5 μ m, 125 \times 4.6 mm) a été utilisée.

Le tableau ci-dessous présente le gradient d'élution adopté pour cette analyse.

Tableau III : Vitesses et gradients d'élution (%)

Phase A	Phase B	Temps d'élution (min)
15	85	0 -12
40	60	12 -14
60	40	14 -18
80	20	18 -20
90	10	20 -24
100	0	24 -28

Phase A: Acétonitrile pure;

Phase B: H_2SO_4 (0, 2%)

Le débit est fixé à 1 ml/min, la détection se fait à 254 nm et le volume d'extrait injecté est fixé à 20 μ l.

- **Préparation de l'extrait**

0,5g de BHT ont été dissouts dans 500ml de méthanol, 20ml de solution ont été additionnés à 0,5g de poudre, on ajoute 10ml de HCL (1M), ensuite on agite pendant 15min, après on porte le mélange à l'incubation dans un bain marie pendant 2h à 90°C.

Après incubation, on filtre le mélange au travers d'un micro filtre de 0,45 ou 0,22 μ m. l'échantillon est filtré est conservé à 4°C avant son injection dans l'appareil de l'HPLC (Benahmed Djilali *et al.*, (2016).



Figure15 : l'extrait filtré

- **Préparation des étalons**

Trois types de flavonoïdes standards (catéchine, quercetine et l'acide hydroxy benzoïque) ont été utilisés. Ces étalons sont préparés dans l'éthanol à raison (50 mg de chaque étalon dans 10 ml d'éthanol) ensuite on agite pendant 15 min. Les solutions ainsi obtenues sont filtrées à travers un micro filtre de 0,45 ou 0,22 μ m (Benahmed Djilali *et al.*, (2016).

IV.4.4. 13. Analyse de la microstructure des poudres

Mode opératoire

L'analyse de la microstructure d'une poudre. C'est une méthode d'analyse directe qui consiste à balayer la surface d'un échantillon par un faisceau focalisé d'électrons accélérés à des tensions de 5 à 30 kv. Ces électrons vont interagir avec la surface de l'échantillon.

Le signal émis en chaque point de la surface de l'objet est synchronisé avec celui d'un écran vidéo. Cela permet la formation d'une image composite modulée par l'intensité du signal détecté (Fontanille et Gnanou, 1994).

Les structures microscopiques des différentes poudres de *Pyracantha coccinea* issues des deux modes de séchage étudiés ont été analysées avec un microscope électronique à balayage de type (PHILIPS ESEM XL 30) au niveau du laboratoire de chimie de l'UMMTO.

IV.4. 4.14. Activité antimicrobienne

La détermination de l'activité microbienne a été évaluée sur les extraits phénoliques (aqueux et éthanoïques) (Figure 16) issus des poudres obtenues après séchage à air libre et à air chaud à 65 et 75°C.

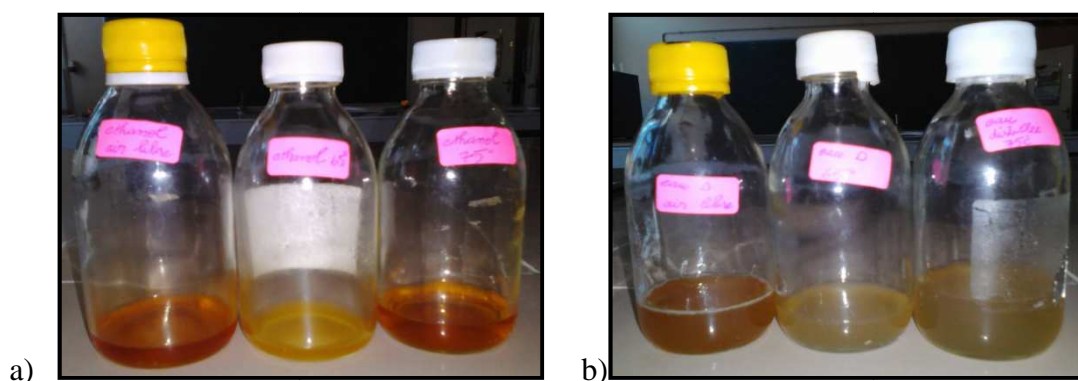


Figure 16 : Aspect des extraits phénoliques issus des poudres de *Pyracantha coccinea*

a) extraits aqueux, b) extraits éthanoïques

L'évaluation de l'activité antibactérienne de notre extrait a été faite sur 6 souches microbiennes.

➤ **Préparation des milieux de culture**

Pour notre travail nous avons utilisé les milieux de culture suivants:

La gélose Muller Hinton (MH) a été utilisée pour les souches bactériennes la gélose Sabouraud a été utilisée pour les souches fongiques. La composition des deux milieux est présentée dans l'annexe 1.

➤ **Préparation des disques**

Nous avons préparé les disques par papier wattman de 6mm de diamètre, ensuite elles ont été mises dans un tube à essai, le tube est stérilisé dans un autoclave dans un tube à essai bien fermé. Et garder le jusqu'à l'utilisation.

➤ **Préparation des prés cultures**

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 18 à 20 h à 37°C. De même, les souches fongiques à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Sabouraud et incubées à

28 °C pendant 5 à 7 jours. À la fin de l'incubation, on obtient des cultures jeunes de colonies isolées.

➤ **Standardisation des suspensions bactériennes**

A l'aide d'une pipette Pasteur, nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques que l'on a mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée.

L'absorbance (densité optique) de chaque suspension est mesurée à une longueur d'onde de 620 nm et doit être comprise entre 0,08 et 0,1, cela selon Benhammou *et al.*, (2008).

➤ **Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des disques**

La méthode de diffusion à partir d'un disque a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne (Benjelali *et al.*, 1986).

Les disques préparés sont imbibés de 10 µl de chaque extrait. Par ailleurs, la gélose de Mueller-Hinton stérile a été coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laissée refroidir.

Des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées, sontensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile, en tournant chaque fois la boîte d'environ 60° de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose.

L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après la durée d'incubation à la température du germe testé.

➤ **Lecture**

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait (Ponce *et al.*, 2003).

- Souche non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm ;
- Souche sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm ;
- Souche très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm ;
- Souche extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

Chapitre V

Résultats et discussion

V. 1. Cinétique de séchage

Les figures (17 et 18) illustrent les cinétiques de séchage de *Pyracantha coccinea* à air chaud (65° et 75°C) et air libre.

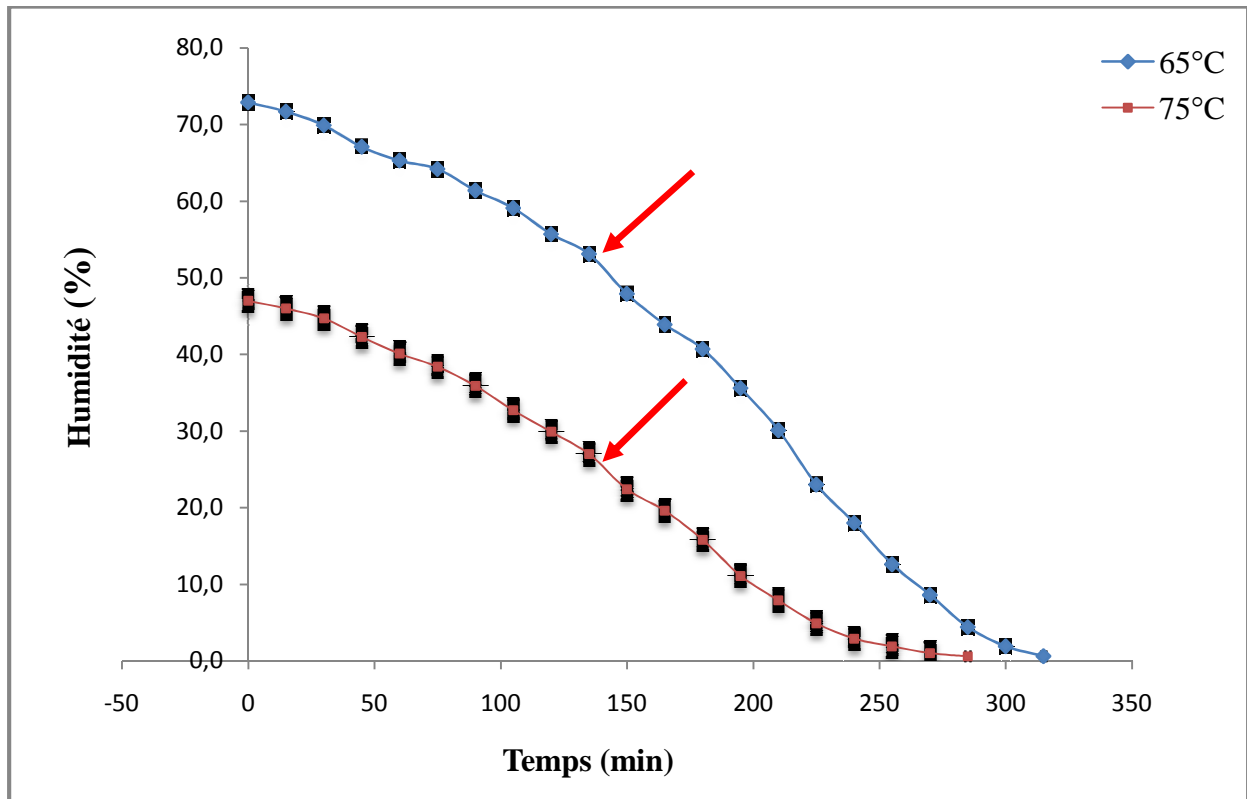


Figure 17 : Courbes de séchage de fruit *Pyracantha coccinea* à air chaud (65°et 75°C)

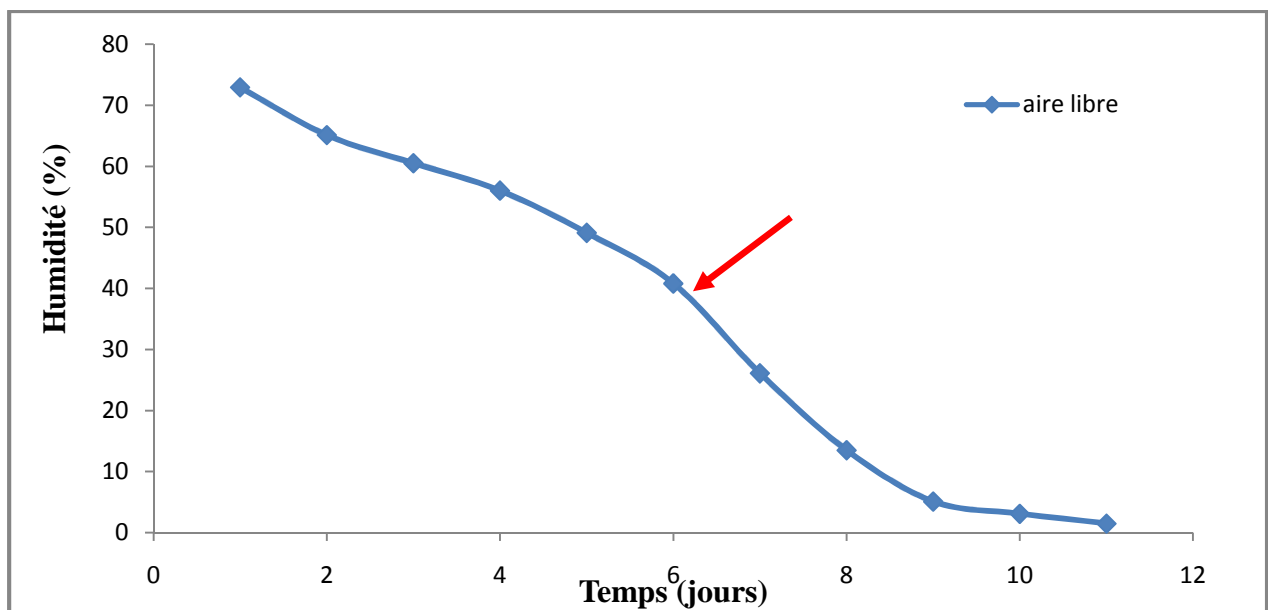


Figure18 : Courbe de séchage de fruit *Pyracantha coccinea* à air libre

Les figures (17-18) montrent les courbes de séchage de fruit *Pyracantha coccinea* à 65°C, 75°C et à air libre. Ces températures de séchage ont été sélectionnées dans l'intervalle de températures conventionnellement utilisées pour sécher les fruits et légumes.

Tous les échantillons présentent globalement deux phases de séchage distinctes : la première se caractérise par une vitesse de séchage constante qui reflète une élimination d'eau trop rapide, quant à la deuxième phase, la vitesse de séchage devient lente. Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux signalant la présence de deux périodes de séchage (Bimbenet, 1978 ; Sainclivier, 1985 ; Poernomo *et al.*, 1992).

Nous remarquons aussi que, le temps de séchage diminue considérablement avec l'augmentation de la température. En effet les températures de 65°C et 75°C favorisent des vitesses de séchage rapides.

Nos résultats sont en accords avec ceux de Madamba *et al.*(1996) ; Pezzutti et Crapiste(1997) et Sharma et Prasad(2001) qui ont travaillé sur le séchage de l'ail.

En ce qui concerne, le changement observé dans les allures correspond à un point critique (voir flèche sur les figures 17-18). Ce point explique un changement de la structure du fruit (Benahmed Djilali, 2012).

Le temps découlé pour avoir une humidité de 4% est de 315min et 240min en séchant à 65 et 75°C respectivement. Cependant, la même humidité est atteinte pendant une longue durée (9 jours) en séchant le fruit à air doux à la température de l'ambiante. Lorsque l'humidité dépasse ce seuil, différentes réactions d'altérations peuvent avoir lieu.

Les poudres obtenues (figure 19) sont utilisées pour des analyses ultérieures, étant donné que l'objectif principale du séchage des aliments est la réduction de leur teneur en eau afin de prolonger les durées de conservation (Okos *et al.*, 1992).



Figure 19: Les différentes poudres de *Pyracantha coccinea* obtenues par les deux modes de séchage.

(a) Poudre issue de séchage de fruit à air libre ;(b) Poudre issue de séchage de fruit à 75°C ; (c) Poudre issue de séchage de fruit à 65°C.

V.2. Résultats de la caractérisation morphologique de fruit

Les résultats des paramètres physiques (la masse, la taille et le diamètre) caractéristiques de fruit *Pyracantha coccinea* sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : paramètres physiques de fruit *Pyracantha coccinea* (n=10)

Masse en (mg)	Diamètre (mm)	Taille (mm)
255	80	80
163	60	50
306	100	80
278	90	80
296	80	80
169	90	60
286	80	70
260	90	70
208	80	60
180	90	70
240,1±48,08	84±8	70±8












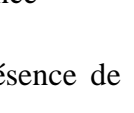
En comparant la valeur de la masse de ce fruit par rapport à celles rapportées par Ozcan *et al.* (2005) (303mg) et Boudaraa, (2008) (343mg) caractérisant l'aubépine *Crataegus monogyna* Jaq. Nous pouvons déduire que cette valeur est inférieure à celle de *Crataegus monogyna* Jaq.

Il est important de signaler que, en aucun cas ce fruit n'a été caractérisé dans des travaux ultérieurs.

V.3. Résultats d'analyse phytochimique

Cette analyse qualitative nous a permis de mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires que contient ce fruit. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau V.

Tableau V : Résultats de screening photochimique de fruit *Pyracantha coccinea*

Métabolites secondaires	Quantité	Résultats
Anthocyanes	(+)	
Tanins	(+++)	
Tanins galliques	(+++)	
Flavonoïdes	(++)	
Quinones libres	(-)	
Alcaloïdes	(+++)	
Glucosides	(+++)	
Coumarines	(+)	
Saponines triterpéniques	(-)	
Saponines stéroïdiques	(-)	
Senosides	(-)	
Quinones combinées	(-)	

(+++): Abondance ; (++) : moyenne ; (+) : faible ; (-) : absence

Selon les résultats présentés dans le tableau V, on constate la présence de certains composés organiques à des fortes proportions tels que les tanins, tanins galliques, alcaloïdes, et les glucosides. De même, les flavonoïdes sont présents à des teneurs moyennes. On trouve aussi, les anthocyanes et les coumarines qui sont présents à des faibles quantités.

Néanmoins, les quinones (libres et combinées), les saponines (tri terpéniques et stéroïdiques), et les sennosides sont absents dans ce fruit.

En effet, ces métabolites (tanins, flavonoïdes) ont été déjà recherchés par (Balkhir *et al.*, 2013) traitant du même fruit, ces résultats affirment effectivement nos résultats.

V.4. Résultats des paramètres physico-chimiques de fruit

V.4.1. Teneur en eau

Le tableau VI présente les valeurs de taux d'humidité et de la matière sèche de fruit *Pyracantha coccinea*.

Tableau VI : Teneur en eau et en matière sèche du fruit *Pyracantha coccinea* (n=3)

Teneur en eau (%)	Teneur en matière sèche (%)
79,7 ±0,004	20,3±0,004

L'analyse de notre fruit a révélé un taux d'humidité d'environ 79,7%. La teneur trouvée est très élevée ce qui incite différentes altérations après la récolte. Il est indispensable de réaliser le séchage dont le but de conserver les qualités initiales de ce fruit lors de l'entreposage. Comparativement aux valeurs trouvées chez d'autres variétés de la même famille en l'occurrence, le *crataegus monogyna* Jacq, (L'aubépine) a été caractérisée par Couplan, (1998), qu'a signalés la valeur en eau de 72%.

Si on compare la teneur en eau de ce fruit à celles trouvées chez les espèces, *Ziypus maritiana* (Grosskinsky et Gullick, 2000), *Ziypus spin-christi* (Anotony, 2005) et *Ziypus jujuba* (Catoire *et al.*, 1994 ; Benahmed Djilali *et al.*, 2016) dont les teneurs sont comprises entre 46 et 85%.

V.4.2. Caractérisation physico-chimique des poudres obtenues

La composition physico-chimique des poudres obtenues influence significativement la qualité du produit fini.

Les résultats de certains paramètres physico-chimiques des poudres de ce fruit sont résumés dans le tableau VII.

Tableau VII: Résultats de quelques paramètres physico-chimiques des poudres obtenues (n=3)

Paramètres	Teneur (moyenne ± ET)				
	Fruit à l'état frais	Poudre obtenue à l'air libre	Poudre obtenue à 65°C	Poudre obtenue à 75°C	
pH à 20°C	4,870±0,027	5,077±0,011	4,813±0,004	5,013±0,018	
Humidité(%)	4	4	4	4	
Cendres(%)	1,255±0,001	6,777±0,001	3,414±0,005	6,390±0,001	
Matières organiques(%)	98,744±0,001	93,222±0,001	96,585±0,005	93,609±0,001	
Acidité titrable (g d'acide citrique/100g MS)	0,483±0,030	0,904±0,038	1,137±0,116	1,341±0,097	
Vitamine C (mg/l)	132	114	79,2	123	
Sucres (g/100ml)	Sucres totaux	1,200±0,058	1,588±0,288	0,995±0,010	0,951±0,046
	Sucres réducteurs	0,193±0,015	0,577±0,038	0,596±0,94	0,500±0,024
	Saccharose	0,956±0,041	0,956±0,302	0,379±0,099	0,427±0,067

Les résultats obtenus montrent que, les trois poudres présentent un pH légèrement acide qui varie entre 4,813 et 5,077.

Nous remarquons que, le mode de séchage influence la teneur en cendres. Les poudres issues de séchage de fruit à 75°C et à air libre ont des teneurs similaires. Cependant, le fruit à l'état frais et la poudre obtenue à 65°C présentent des teneurs plus faibles. Cette différence peut s'expliquer par le taux de dégradation de la matière organique.

Le même effet a été observé pour l'acidité, une augmentation de la température de l'air de séchage influence positivement la valeur de l'acidité titrable. En effet, les poudres issues de séchage de fruit à air chaud présentent des valeurs en acidité similaires et qui sont importantes en comparaison avec celle obtenue en séchant le fruit à air libre (0,904±0,030g d'acide citrique /100gMS) et celle de fruit frais (0,483±0,030 g d'acide citrique /100gMS).

L'acidité de ce fruit est comparable à celle des variétés des dattes (0,13g d'acide citrique /100gMS) (*Mach-Degla*) et (1,84g d'acide citrique/100gMS) (*Ghars*) (Benahmad Djilali, 2012).

Cette différence peut s'expliquer d'une part par le degré de maturation de fruit et d'autre part, par le degré d'élimination d'eau qui se traduit par une augmentation des matières sèches des produits et une concentration remarquable d'éléments (Harisoamahefa, 2013).

Il ressort du tableau VII que, les poudres obtenues et le fruit frais ont très faibles valeurs en sucres (inférieures à 2%).

Nous constatons que, la température de séchage influence négativement la teneur en saccharose, les poudres issues de séchage de fruit à air chaud (65 et 75°C) présentent des valeurs très proches respectivement ($0,427 \pm 0,067$ et $0,379 \pm 0,099$ g/100 ml) et qui restent faibles à celles de fruit frais et de la poudre issue du séchage à air libre. Cette différence s'explique par le phénomène de caramélisation de saccharose lors de séchage.

Le fruit et les trois poudres sont riches en vitamine C, le fruit à l'état frais a une valeur plus élevée en vitamine C (132mg/l), cette valeur est comparable à celle trouvée chez la Goyave qui est de (126,37mg/l) (Harisoamahefa, 2013)

La teneur en vitamine C diminue en augmentant la température une valeur de (79,2mg/l) a été constatée en séchant le fruit à 65 °C. La valeur trouvée est presque similaire à celle du fruit de Papaye qui est de (67,3mg/l) (Harisoamahefa, 2013).

La teneur en vitamine C de chaque échantillon de fruit diminue après le séchage. La diminution s'explique par le fait que les vitamines sont sensibles à la chaleur et aux différentes réactions d'oxydation.

Nous pouvons conclure que, le séchage de ce fruit à air doux préserve mieux la vitamine C.

V.5. Les éléments minéraux

Tableau VIII : Composition minérale de fruit *Pyracantha coccinea*

Minéraux	Teneur (mg /g MS)
Na	26569,95
Mg	25486,37
Fe	5663,422
Zn	508,6550
Mn	292,294
Cu	228,949
Pb	183,57
Cr	6,887
Ni	5,178
Cd	0,136

Les résultats présentés dans le tableau VIII, révèlent que, le fruit *Pyracantha coccinea* est riche en minéraux essentiels à l'organisme (sodium, magnésium, Fer, Zinc, manganèse et en cuivre). Ce fruit peut répondre à plusieurs désordres que l'être humain souffre.

En effet, le fer participe à la fonction vitale (transport des électrons et cofacteur des réactions d'oxydoréduction), le sodium à un rôle dans la conduction du système nerveux et dans l'équilibre hydroélectrique.

De même, le magnésium joue un rôle dans la régulation de l'influx nerveux et comme cofacteur de plus de 3000 systèmes enzymatiques ainsi que dans la stabilité membranaire.

Les métaux lourds tels que le nickel, le potassium, et le chrome sont aussi présents mais à des quantités plus faibles voire négligeables. Tandis que le Plomb constitue une teneur importante.

V.6. Analyse quantitative des composés phénoliques

V.6.1. Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir des différents extraits (aqueux et éthanolique) a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage.

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique sont rapportés dans la (figure 20). Les valeurs sont les moyennes \pm ET de trois répétitions.

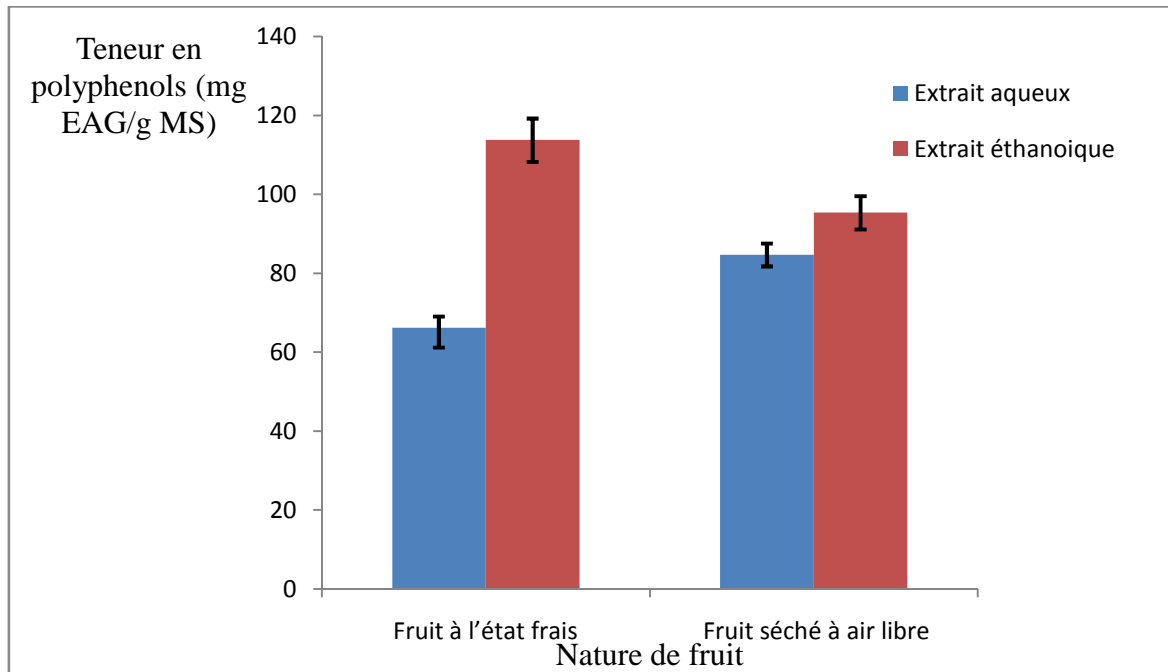


Figure 20 : Résultats relatifs aux taux des polyphénols des différents extraits à base de *Pyracantha coccinea*.

Les résultats montrent que les extraits éthanoliques préparés à partir du fruit frais et le fruit séché à air libre présentent des teneurs importantes en polyphénols respectivement (113,79 \pm 5,5 ; 95,38 \pm 4,2 mg EAG/g MS). Contrairement, aux extraits aqueux (66,20 \pm 4,9 mg EAG/g MS ; 84,69 \pm 2,8 mg EAG/g MS) respectivement préparés à base des fruits frais et séchés à air libre.

En effet, le dosage par ce réactif donne une évaluation globale de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, en outre, certaines substances, telles que la vitamine C, les caroténoïdes, les sucres réducteurs et les acides aminés phénoliques, peuvent en réduisant le complexe phosphotungstique - phosphomolybdique interférer et accorder une surestimation de la teneur en polyphénols (Gomez-caravaca *et al.*, 2006). En fait, cette méthode donne un aperçu sur la qualité réductrice d'un ensemble de composés en plus les polyphénols.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites

secondaires tels que les polyphénols (Falleh *et al.*, 2008).

En effet, la teneur des composés phénoliques d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (les conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Falleh *et al.*, 2008 ; Podsdek, 2007).

V.6.1.2. Résultats d'analyse statistiques des polyphénols

Les quantités moyennes des polyphénols du fruit frais et du fruit séché à air libre sont représentées dans le tableau IX

Tableau IX : quantités moyennes en polyphénols extraits (mg EAG/g MS)

Equations Conditions	Moyenne (\bar{x})	la variance (δ^2)	Ecart-type (δ)	Coefficient de variation (CV%)	Intervalle de confiance (d)	Erreur relative à la moyenne (dr%)
Fruit frais	89,996	1132,260	33,64	37,379	75,90	84,32
Fruit séché à aire libre	90,016	57,38	7,57	8,415	17,06	18,96
Eau distillée	75,431	170,32	13,05	17,30	15,43	20,46
Ethanol	104,581	169,592	13,02	12,45	15,40	14,71

Le tableau IX montre que le fruit à l'état frais après macération dans l'éthanol présente la teneur la plus élevée en polyphénols de l'ordre de (113,79 mg EAG/g MS).

La variabilité des quantités de polyphénols extraites à air libre reste acceptable à l'exception de fruit frais dont le coefficient de variation (CV%) est de 37,38% dépassant le seuil de fluctuation biologiquement admis de 35%.

Cette variabilité modérée dénote de la maîtrise de la technique d'extraction et /ou de l'homogénéité des unités d'échantillonnage utilisées.

La quantité attendue dans 95% de cas ne présente pas de grands écarts par rapport aux quantités extraites à l'exception de fruit frais dont l'intervalle de confiance est de (75,90 mg EAG/g MS) représentant 85,19% de la quantité extraite.

Enfin les erreurs enregistrées sont supérieures au seuil biologiquement admis à l'exception des quantités extraites avec le solvant éthanol avec une erreur de 14,71%.

V.6.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercétine.

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes sont rapportés dans la (figure 21). Les valeurs sont les moyennes \pm ET de trois répétitions.

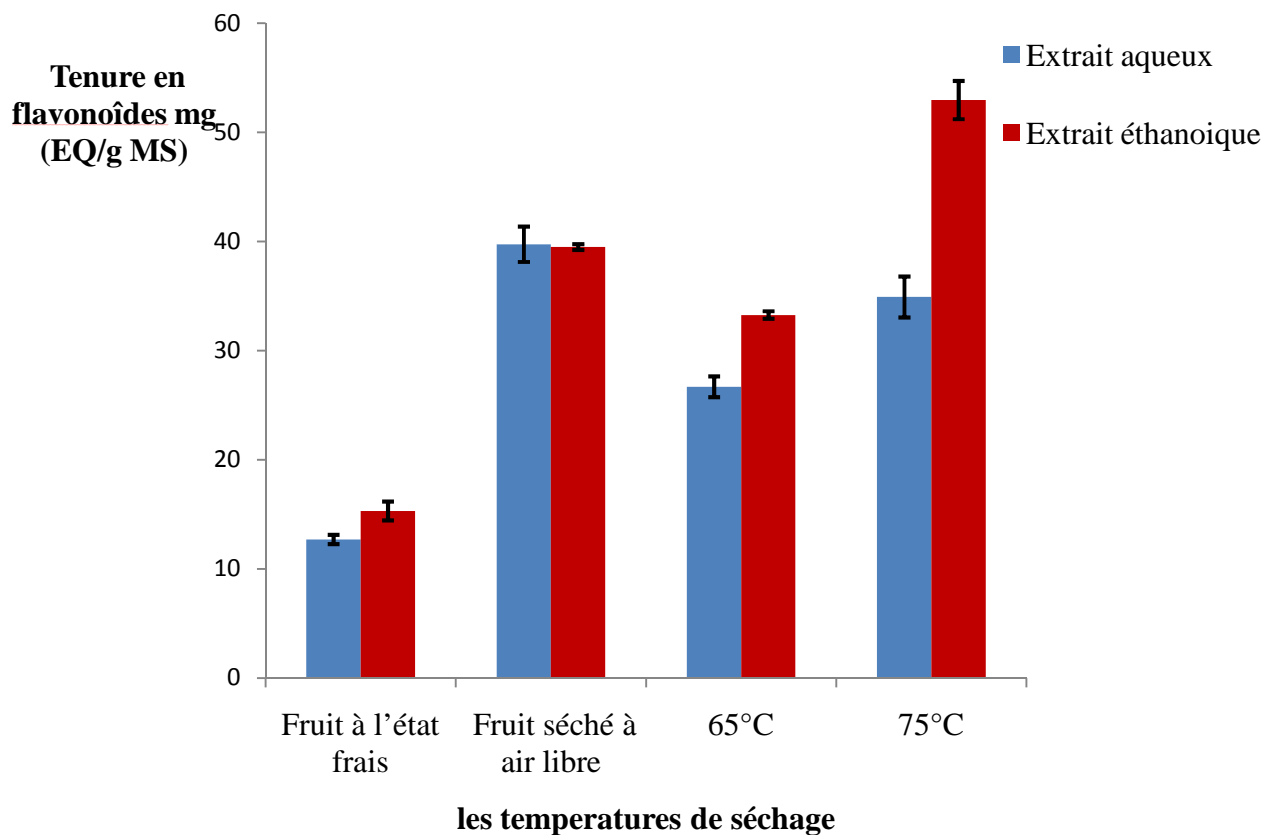


Figure 21: Résultats relatifs aux taux des flavonoïdes des différents extraits à base de *Pyracantha coccinea*

Les résultats de dosage quantitatif révèlent que, l'extrait éthanoïque issu de fruit séché à 75°C a une forte teneur en flavonoïdes ($52,97 \pm 1,75$ mg EQ/g MS), par rapport aux extraits issus des fruits séchés par les différents modes de séchage.

Par ailleurs, les l'extrait aqueux et éthanoïques de fruit séché à air libre présente une teneur élevée en flavonoïdes ($39,75 \pm 1,62$ mg EQ/g MS), suivi par les deux extraits préparés à base des fruits séchés à air chaud (65°C et 75°C) avec les valeurs ($26,69 \pm 0,95$; $34,92 \pm 1,87$ mg EQ/g MS) respectivement.

Nous remarquons aussi que, les extraits aqueux et éthanolique issus de fruit frais présentent des faibles teneurs en flavonoïdes ($12,70 \pm 0,24$; $15,30 \pm 0,86$ mg EQ/g MS) respectivement.

V.6.2.1. Résultats d'analyse statistiques des flavonoïdes

Les quantités moyennes des flavonoïdes extraites des poudres de *Pyracantha coccinea* séché à différentes températures (65°C, 75°C et, à air libre) et le fruit frais après macération dans les deux solvants (eau distillée et l'éthanol) sont représentées dans le tableau X

Tableau X : quantités moyennes des flavonoïdes extraits (mg EQ/g MS).

Equations Conditions	Moyenne (\bar{x})	la variance (δ^2)	Ecart- type (δ)	Coefficient de variation (CV%)	Intervalle de confiance (d)	Erreur relative à la moyenne (dr%)
Fruit frais	14,005	3,38	1,83	13,06	4,10	29,47
Air libre	42,44	14,418	3,797	8,946	8,56	20,19
65°C	29,98	21,582	4,645	15,493	10,46	34,97
75°C	43,95	162,900	12,76	29,032	28,77	65,52
Eau distillée	28,52	140,231	11,841	41,52	13,29	49,10
éthanol	36,667	268,465	16,384	44,68	19,37	52,83

Le tableau X montre que les quantités des flavonoïdes des différents extraits varient de (14,01mg EQ/g) pour l'extraction de fruit frais, à (43,95mg EQ/g MS) pour l'extraction à 75°C. Avec une teneur maximale de (52,98mg EQ/g MS) en utilisant éthanol. De même il semble que la tendance vas des quantités élevées et avec l'éthanol avec une moyenne de (36,67mg EQ/g MS).

La variabilité des quantités acceptables pour les conditions d'extraction avec des CV% allant 13,06% à 29,03% alors que cette dernière est trop élevée pour les deux solvants utilisés, les coefficients de variations estimés sont de 41,52% et de 44,68%, dépassant le seuil de variabilité biologiquement admis de 35%.

Par ailleurs, sous les différentes conditions d'extraction testées, les quantités moyennes de flavonoïde auxquelles on pourrait s'attendre dans 95% de cas, varieraient de (14,01±4,10 mg EQ/g MS) (fruits frais) à (43,95±28,77mg EQ/g MS) (fruit séché à 75°C).

Les erreurs estimées dépassent le seuil de 10 à 12%, seuil biologiquement admis pour les quatre conditions et les deux solvants d'extraction utilisés, ce qui pourrait être expliqué par la variabilité excessive ou/et par l'insuffisance de la taille de l'échantillon utilisé.

V.6.2.2. Effet des facteurs étudiés

L'analyse de la variance des quantités de flavonoïdes extraites (Tableau XI) montre que l'action des températures de séchage est déterminante.

Tableau XI : Analyse de la variance des quantités de flavonoïdes extraite en (mg EQ/g).

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F _{obs}
Conditions	03	1156,58	385,51	16,69
Probabilité (blocs)	01	132,77	132,77	5,73
Variation Résiduelle	03	69,51	23,17	1
Variation totale	07	1348,86	541,45	

Avec

F_{obs} : fréquence observée

CM : carré moyen

SCE : Somme des carrés des écarts

ddl : degré de liberté

Nous remarquons que F observé (16,69) est supérieure à celle de F théorique correspondante égale à 9,28 avec un risque d'erreur $\alpha \geq 5\%$.

Par contre, on constate que, les différences entre le solvant d'extraction et les interactions (solvant-température), ne sont pas significatives car les fréquences observées estimés sont respectivement de 5,73 et 1. Elles sont inférieures aux fréquences théoriques correspondantes égales respectivement à 10,1 et à 9,28.

Ceci peut être expliqué, soit par l'absence de l'action de solvant, ou bien cette action n'apparaît pas, suite à l'influence plus conséquente d'autres facteurs (synergie entre les facteurs).

V.6.2.3. Détermination des groupes homogènes

La méthode de la plus petite différence significative (PPDS) de Student a permis d'obtenir la matrice de comparaison suivante (Tableau XII).

Tableau XII: Matrice de comparaison des conditions d'extraction

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄
X ₁				
X ₂	28,44			
X ₃	15,98	12,46		
X ₄	29,95	1,52	13,97	

Il ressort de ce tableau que, les conditions forment deux groupes homogènes

Groupe N° 1 : fruit frais

Groupe N° 2 : fruit séché à air libre et à 65°C.

Le fruit séché à 75°C n'est pas classé, car il est proche du 2^{ème} groupe et en même temps diffère de l'un de ses traitements le fruit séché à 65°C.

Enfin le test de Gupta-sobel a révélé que, seules les trois conditions présentent des quantités moyennes de flavonoïdes supérieures à la quantité moyenne maximale (52,97mg EQ /g).

La quantité de Gupta sobel (17,34 mg EQ /g) ; il s'agit de la quantité moyenne maximale (52,97 mg EQ /g) obtenue pour la température de 75°C avec l'éthanol, suivie de la quantité moyenne obtenue à l'air libre avec l'éthanol et l'eau distillée respectivement estimées à (45 mg EQ /g) et à (39,75 mg EQ /g).

En ce qui concerne l'action des deux facteurs sur la teneur en polyphénols en utilisant le test de comparaison de Student a révélé des différences significatives entre les deux

solvants utilisés car la température observée estimée à 3,87 est supérieure à la température de 3,169 correspondants à un risque d'erreur $\alpha \geq 0,05$ et à un degré de liberté égal à 10. Par contre le « t » observée relatif à la quantité extraite sous les deux conditions estimé à 355.10^{-6} est très inférieure au « t » théorique correspondant égal à 3,169. Ce qui exclue toute différence significative entre les deux conditions (eau distillée/ éthanol).

V.6.3.Relation entre les quantités totales de polyphénols et de flavonoïdes extraits

Le coefficient de corrélation (R^2), estimé à 0,71 indique que la relation entre les deux variables (polyphénols /flavonoïdes) est positivement élevée ; la quantité de Flavonoïdes dépendrait pour 52% de celles des polyphénols car ce coefficient de détermination est important d'où la possibilité de prévision d'estimation et de modification de la teneur des polyphénols extraite en flavonoïdes (la modélisation).

Pour conclure, l'analyse statistique n'a pas montré de différence significative entre les quantités de flavonoïdes extraites avec l'utilisation des deux solvants (eau distillée, éthanol), ainsi que l'interaction (solvants et conditions d'extractions), mais cela n'exclue pas leur effet.

Ceci peut être expliqué soit par l'action des sources qui serait très faibles, ou bien les deux influences sont importantes, elles n'apparaissent pas suite à l'action plus conséquente des résidus (autre facteur), d'où l'importance de l'évaluation de l'action résiduelle par le coefficient de variation résiduel (CV_R) estimé à 3,68% étant inférieur à 10%, l'action résiduelle est donc négligeable ce qui confirmerait l'absence de l'influence du facteur solvant ainsi que les interactions.(solvants et conditions d'extractions).

Néanmoins celle-ci pourrait être déterminante mais reste non apparente suite aux conditions d'échantillonnage en l'occurrence l'insuffisance de la taille de l'échantillon et celle du nombre de la variante pour le facteur solvant (deux variantes d'où le faible degré de liberté (ddl=1)).

V.6.4.Dosage des fractions des flavonoïdes

Tableau XIII : Teneurs des fractions de flavonoïdes de *Pyracantha coccinea* exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g).

	Fraction acétate d'éthyle (F1)	Fraction aglycone (F2)	Fraction n-butanol (F3)	Fraction aqueuse (F4)
Air libre	3,82	2,47	4,38	3,19
T=65°C	0,91	1,56	2,89	2,31

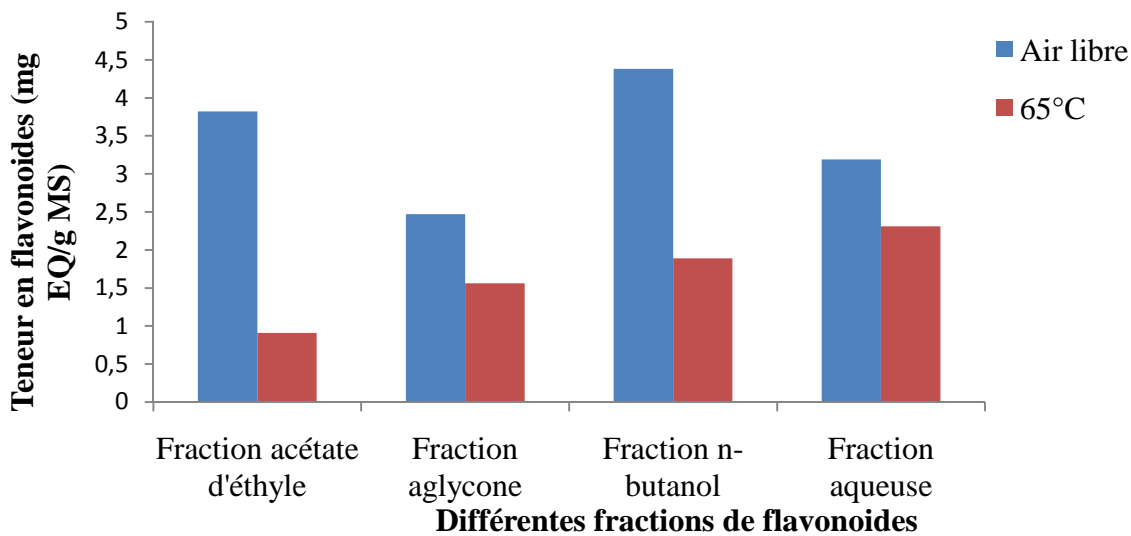


Figure 22 : dosage des fractions des flavonoïdes

Les résultats obtenus montrent que, le solvant n-butanol constitue un meilleur solvant d'extraction des flavonoïdes en utilisant le fruit séché à air libre avec (4,38mgEQ/g) suivi de l'acétate d'éthyle (3,82 mgEQ/g), puis la fraction aqueuse F4 (3,19 mgEQ/g) et la fraction aglycone (2,47 mgEQ/g). Cette variation dans les taux d'extraction pourrait être expliquée par la polarité des solvants utilisés qui extraient des entités différentes impliquant la présence de différentes structures phénoliques dans chaque fraction étudiée.

Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par (Benahmed djilali *et al.*, 2016) qui ont travaillé sur la poudre du jujubier séché avec DIC (Détente Instantanée Contrôlée)

Selon (Elâgoun, 2003), l'acétate d'éthyle est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes aglycoesa ou flavonoïdes mono O- glycosides et partiellement di-O-glycosides, tandis que le n-butanol est utilisé pour l'extraction des flavonoïdes di-O-glycosides et tri-glycosides et Cglycosides.

Nous remarquons aussi que, le séchage de fruit à 65°C incite la dégradation des flavonoïdes des différentes fractions étudiées.

V.7. Analyse qualitative par Chromatographie à Haute Performance

La Chromatographie à haute performance permet d'identifier la présence de quelques substances phénoliques dans l'extrait étudié, et ce par comparaison entre les temps de rétention (TR) des standards et le chromatogramme de l'extrait (Figures 23, 24, 25 et 26).

Le méthanol utilisé a un rôle protecteur. Il peut empêcher les composés phénoliques d'être oxydés par des enzymes, telles que les phénoloxydases.

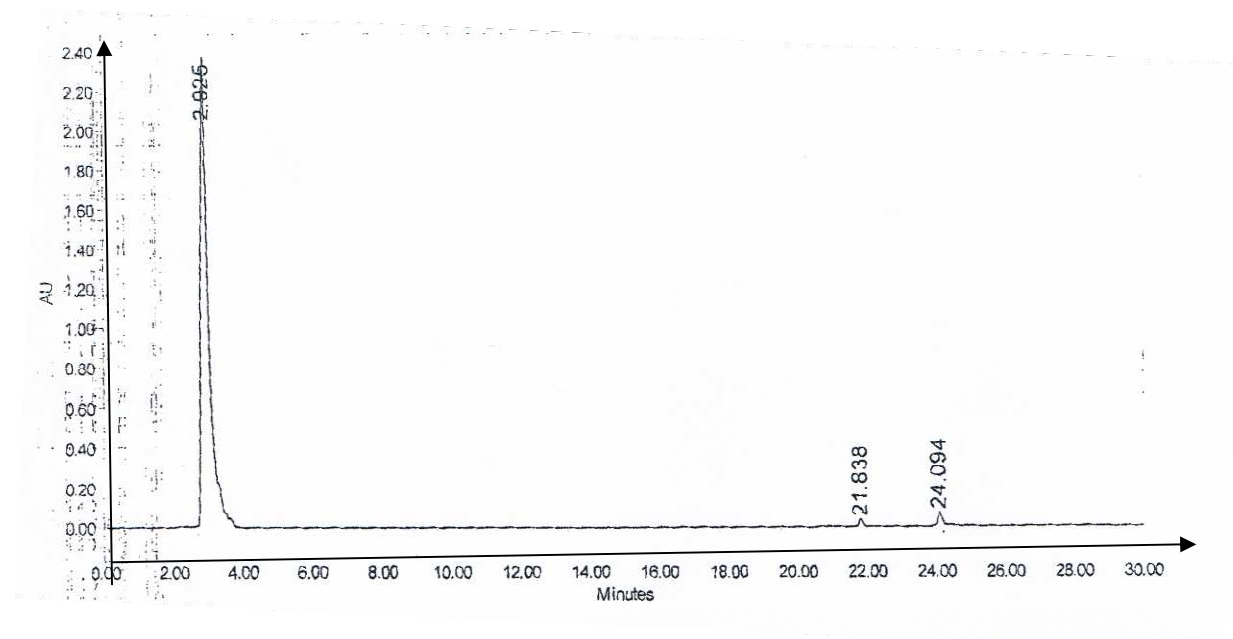


Figure 23 : Chromatogramme de la catéchine

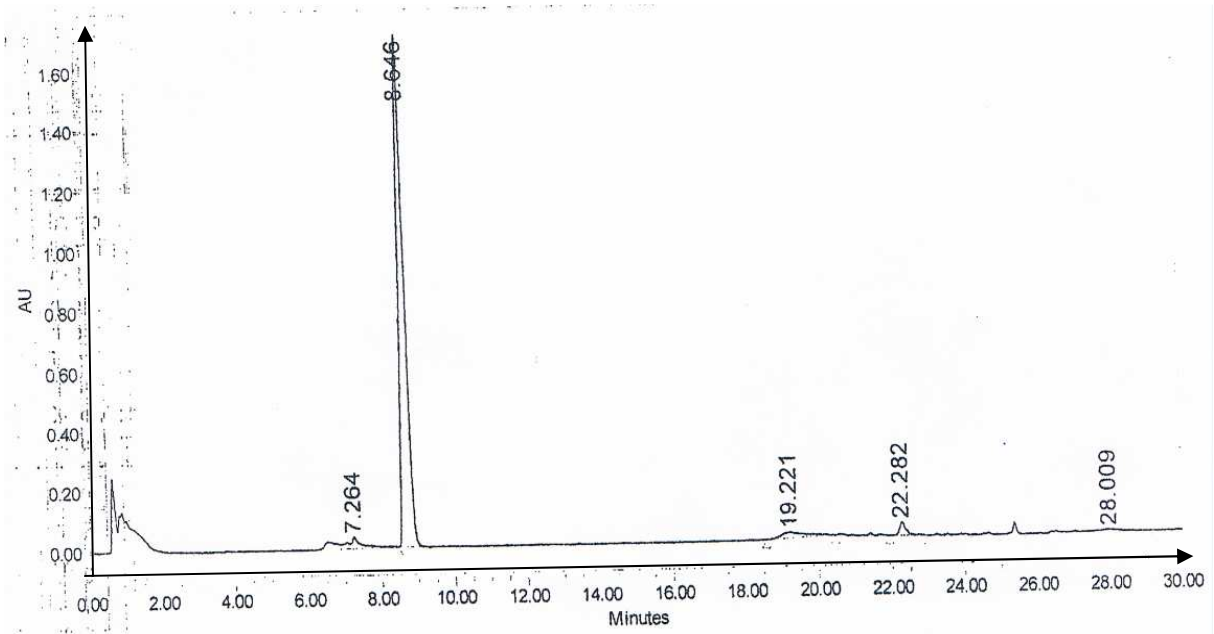


Figure 24 : Chromatogramme de l'acide hydroxybenzoïque

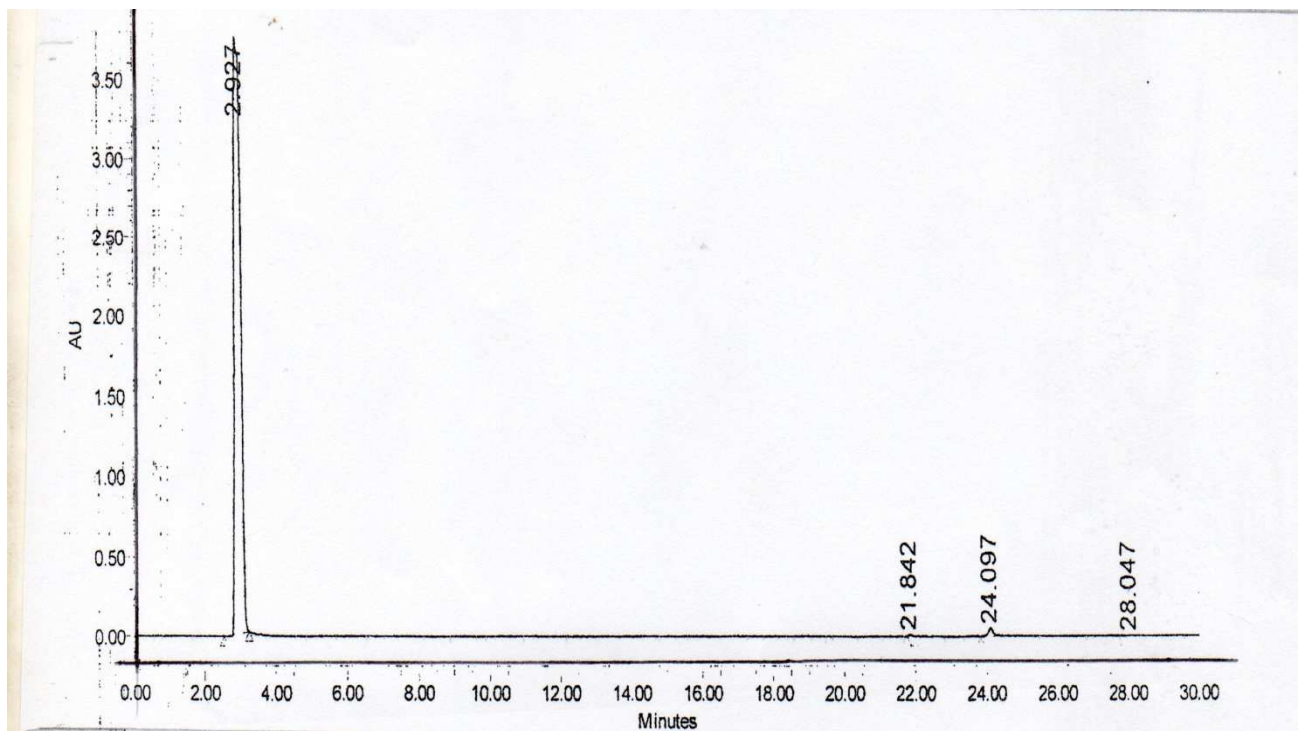


Figure25 : Chromatogramme de la quercétine

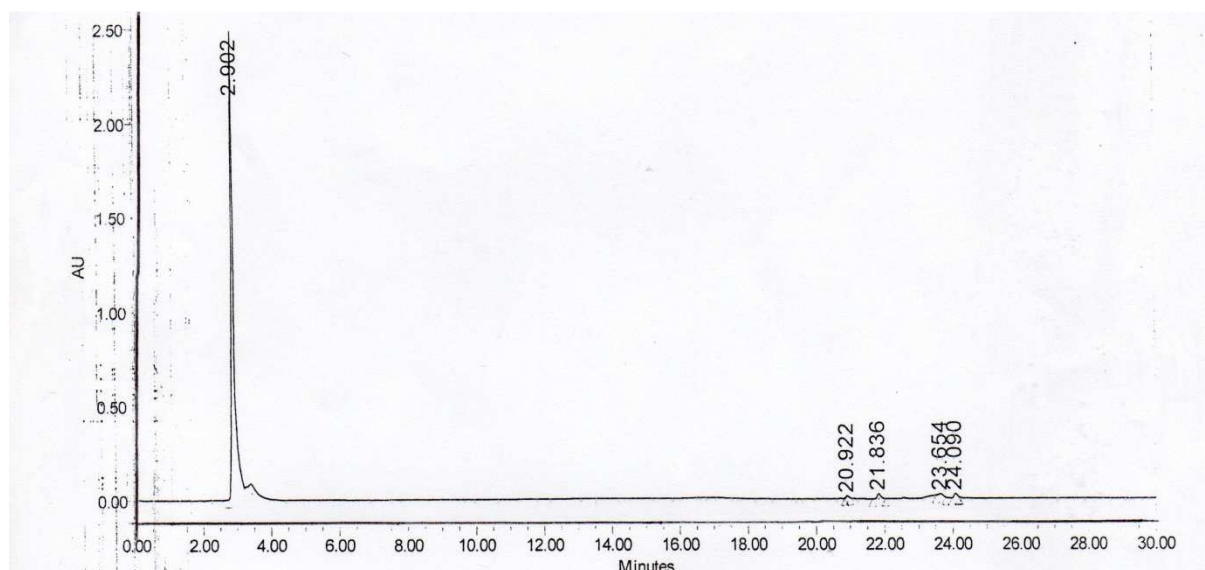


Figure 26 : Chromatogramme de l'extrait méthanoïque de *Pyracantha coccinea*

Tableau XIV : Temps de rétention des flavonoïdes standards

Standards de flavonoïdes	Temps de rétention (min)	Quantité (g)
Quercétine	2,927	0,05
Catéchine	2,026	0,05
Acide hydroxy- benzoïque	8,646	0,05

Tableau XV : Temps de rétention des flavonoïdes présents dans le fruit

Temps de rétention (min)	Flavonoïde probable	Quantité (g/g MS)
2,902	Quercétine	3,9
20,922	Nouveau composé	-
21,836	Nouveau composé	-
23,654	Nouveau composé	-
24,090	Nouveau composé	-

Il ressort des deux tableaux (XIV et XV), que l'extrait éthanoïque issu de la poudre de *Pyracantha coccinea* séché à air libre possède de la quercétine avec une teneur 3,9g/g MS et

d'autres nouveaux flavonoïdes. Nous remarquons aussi que l'acide hydroxybenzoïque et la catéchine sont absents.

Il est à signaler que, les trois standards analysés sont des composés aromatiques responsables de l'arôme. En effet, le fruit analysé à l'état frais se caractérise par une odeur plus moins intense et une saveur acide plus au moins sucrée (pauvre en sucres) et une couleur orange très attirante. Nous pouvons conclure que le séchage influence la disponibilité des composés phénoliques surtout les composés aromatique

Nos résultats sont similaires à ceux de Talbi (2015) et Benahmed Djilali *et al.* (2016) qu'ont a identifié les mêmes types de flavonoïdes (quercétine, hydroxybenzoïque et la catéchine) des espèces de plantes médicinales *Artemisiacampestris* et le fruit de *Ziziphus jujuba* respectivement.

Par manque d'étalons, il serait intéressant de chercher d'autres composés en utilisant d'autres étalons.

V.8. Structures microscopiques des poudres

Les résultats de l'analyse de MEB sont présentés dans la figure ci-dessous

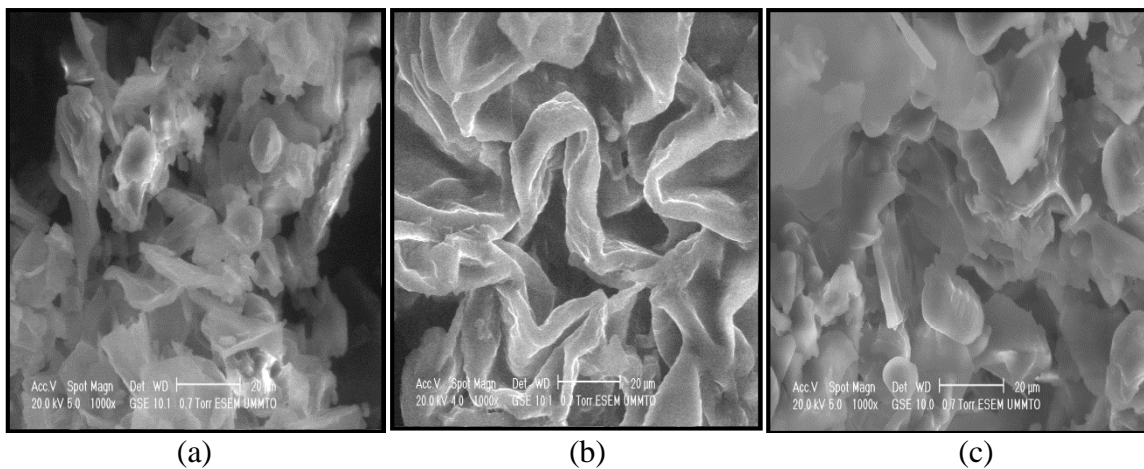


Figure 27: Structures microscopiques des poudres de fruit *Pyracantha coccinea*
a) séchées à air libre ;b) séché à 65°C et c) séché à 75°C

Les poudres de fruit *Pyracantha coccinea* issues des deux modes de séchage présentent presque la même couleur marron, d'odeur moins intense et de saveur acide plus au moins sucrée. Nous constatons que, les poudres issues de séchage de fruit à air libre et à 75°C présentent des particules de formes relativement irrégulières lisses non poreuses formant des agglomérats colmatés de différentes tailles ressemblent à la structure des particules de polymères (Figure 27 a ; c) Cependant, celle obtenue à 65°C est constituée des réseaux de

filaments superposés munis des pores. Globalement, cette poudre présente un bon écoulement qu'est une caractéristique très intéressante de point de vue propriétés pharmacodynamique des poudres fonctionnelles.

V.9. Résultats de l'activité microbienne

La détermination de la zone d'inhibition permet une estimation du caractère de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne contre les extraits testés. Si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition, l'extrait est considéré comme bactéricide par contre, si quelques colonies sont présentes (en densité faible), l'extrait est défini comme bactériostatique.

V.9.1. Résultats de l'activité antibactérienne

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau XVI : Diamètres (mm) des zones d'inhibitions (moyenne \pm ET) exprimés pour les extraits des trois poudres (n=3)

Microorganisme testés	Diamètres d'inhibition (mm)					
	Air libre		T=65°C		T=75°C	
	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque
<i>E.coli</i> ATCC 25322	11,3 \pm 1,1	17,1 \pm 1,5	0	12,8 \pm 1,7	0	23,5 \pm 2,6
	(+)	(++)	(-)	(+)	(-)	(+++)
<i>E.coli</i>	0	16,8 \pm 3,1	0	11,3 \pm 1,7	0	13,6 \pm 2,7
	(-)	(++)	(-)	(+)	(-)	(+)
<i>P. aeruginosa</i>	10,3 \pm 1,2	17,3 \pm 3,5	0	15,5 \pm 3	0	17,5 \pm 2,6
	(+)	(++)	(-)	(++)	(-)	(++)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0	0	0	0	0	0
	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>S. aureus</i>	0	12,3 \pm 0,8	14,8 \pm 0,5	0	0	11,1 \pm 0,2

	(-)	(+)	(++)	(-)	(-)	(+)
<i>K. pneumoia</i>	16,8±3,7	0	0	12,5±2,3	0	12,1±0,5
	(++)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)

Remarque : le diamètre des disques = 6 mm sont inclus dans les mesures.

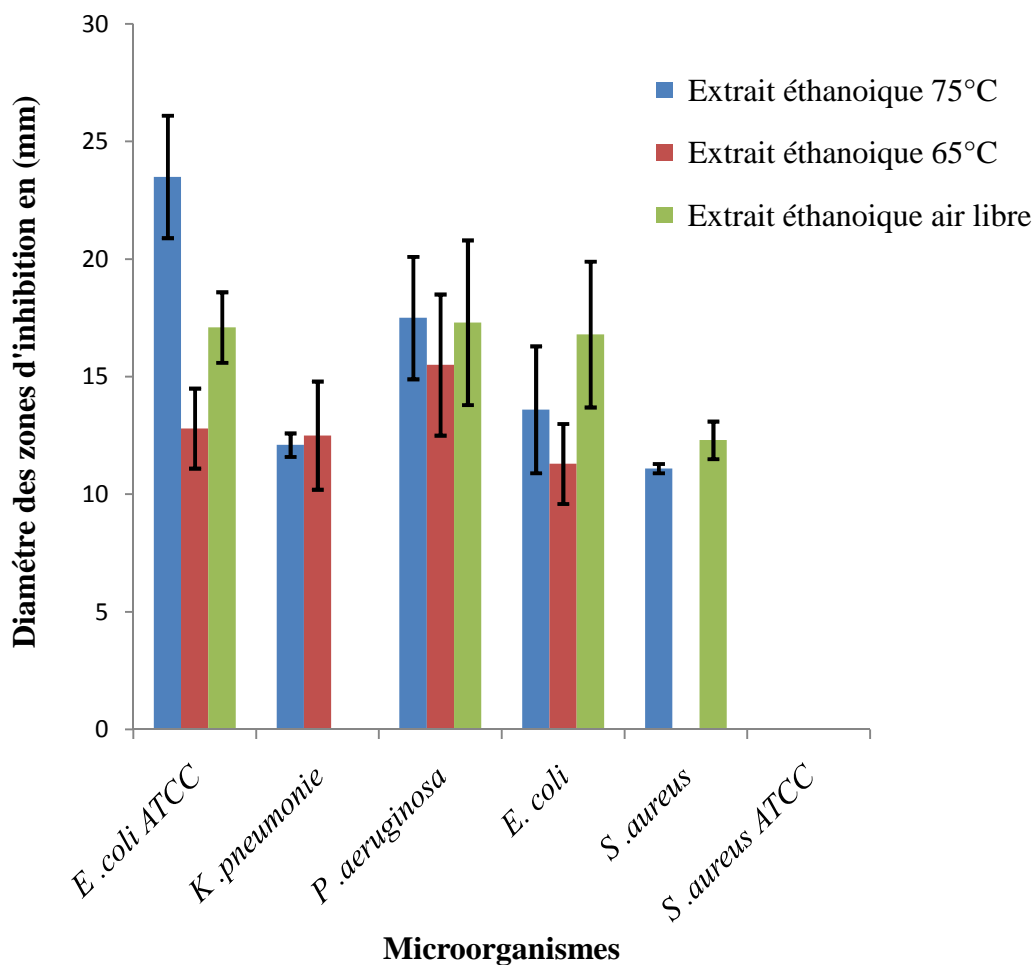


Figure 28 : Représentation graphique des diamètres des zones d’inhibition en (mm) exprimées par les extraits éthanœiques de différentes poudres de *Pyracantha coccinea*.

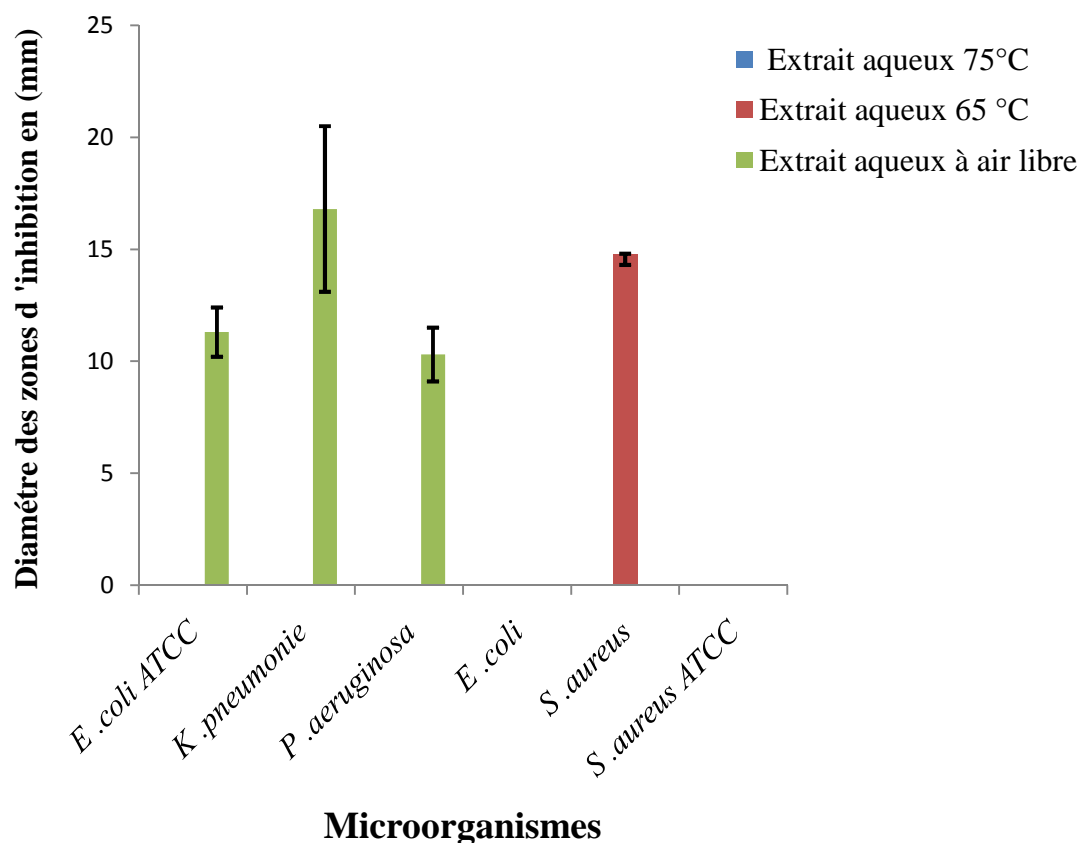


Figure 29 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits aqueux de différentes poudres de *Pyracantha coccinea*.

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait étudié. Les diamètres des zones d'inhibition diffèrent d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une action bactériostatique, si son diamètre d'inhibition est supérieur à 9 mm (Hassan et al., 2006).

D'après ce tableau XVI et les figures présentés dans (Annexe 4), on peut déduire l'effet antibactérien de fruit *Pyracantha coccinea* sur l'ensemble des souches bactériennes Gram(+) et Gram (-) testées. Cet effet, est dû à la présence des flavonoïdes et des polyphénols qui sont des métabolites secondaires, réputés pour des effets antibactériens (Havsteen, 2002).

Les résultats montrent clairement que l'extrait éthanoïque de *Pyracantha coccinea* séché à 75°C présente une grande zone d'inhibition (23,5 mm±2,6) vis-à-vis *E. coli* ATCC.

Toutefois, l'extrait éthanoïque issu de fruit séché à 65°C a un effet bactériostatique sur toutes les souches bactériennes testées mais avec des zones moins importantes.

Il s'avère que, *Staphylococcus aureus* ATCC est résistante contre tous les extraits testés.

Klebsiella pneumoniae présente une résistance contre l'extrait issu de fruit séché à l'air libre.

Tous les extraits aqueux issus de fruit *Pyracantha coccinea* séché par les deux modes de séchage (air chaud à 65°C et air libre) montrent des zones d'inhibitions moins importantes vis-à-vis les souches testées en comparaison à celles obtenues en utilisant les extraits éthanoïques.

En effet, *E. Coli* ATCC et *Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles à l'extrait aqueux issu de fruit séché à l'air libre avec des zones d'inhibition (11,3±1,1 ; 10,3±1,2 mm) respectivement.

Cependant, *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité à l'extrait aqueux de la poudre séchée à 65°C et l'extrait éthanoïque 75°C et air libre.

L'extrait aqueux de la poudre séchée à 75°C ne présente aucune activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches testées.

V.9.2. Résultats de l'activité anti fongique

Tableau XVII: Diamètres (mm) des zones d'inhibitions (moyenne ± ET) exprimés pour l'extrait des trois poudres (n=3)

Microorganismes testés	Diamètres d'inhibition (mm) ±ET					
	Air libre		T=65°C		T=75°C	
	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque
<i>A. Niger</i>	0	0	0	0	0	12,8±1
	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
<i>C. albicans</i>	0	16,1±3,7	0	16,3±1,7	0	13,3±0,4
	(-)	(++)	(-)	(++)	(-)	(+)

Remarque : le diamètre des disques = 6 mm sont inclus dans les mesures.

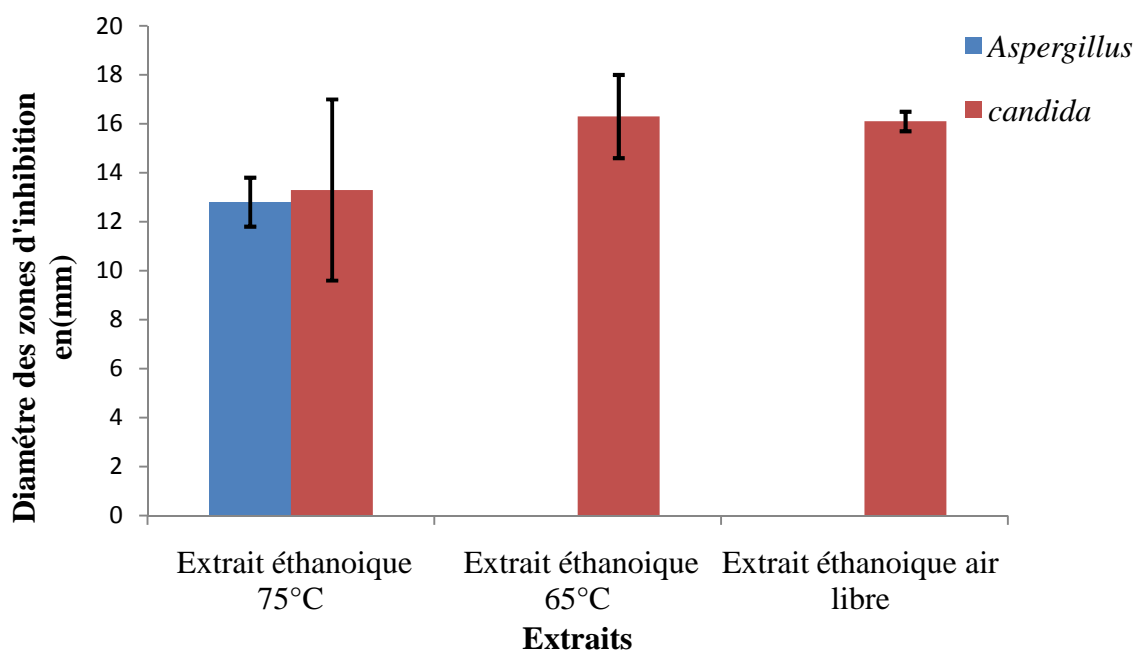


Figure 30 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) exprimées par les extraits éthanoïques de différentes poudres de *Pyracantha coccinea*.

Les résultats rassemblés dans le tableau XVII et les figures (Annexe4) montrent que, tous les extraits éthanoïques ont une activité antifongique contre le *Candida albicans*. L'extraits éthanoïques issus de fruit séché à 75°C présentent une zone d'inhibition qui est de (12,8mm) contre *Aspergillus Niger*.

Cependant, l'extrait éthanoïque issu de fruit séché à 65°C n'exerce aucune activité antifongique vis-à-vis *Aspergillus Niger*.

En outre, tous les extraits aqueux de notre fruit ne présentent aucune activité inhibitrice sur les deux souches fongiques testées.

Nous pouvons expliquer l'inhibition par deux effets : l'effet de la température de séchage de fruit, où bien la nature du solvant d'extraction. Les deux effets ont un impact sur la disponibilité des substances bioactives.

En effet, l'éthanol peut pénétrer dans les parois des levures et des moisissures contrairement à l'eau qui ne diffuse pas dans les parois vue la rigidité de la structure mycélienne qui est constitué de trois polysaccharides : B-1,3 glucane la chitine et la mannane associées par des liaisons chimiques (Farkas *et al.* , 1985).

Il est probable que, les molécules contenues dans les extraits testés inhibent la synthèse de la chitine et agissent alors comme certains antibiotiques (Isono et Suzuki, 1979).

D'autre part, le mécanisme d'action des agents antimicrobiens sur les levures reste mal connu (Isono et Suzuki, 1979 Hassan *et al.* , 2006).

Il en ressort de cette analyse que chaque extrait agit différemment sur les microorganismes c'est-à-dire qu'un extrait peut avoir une action importante sur un germe, ou une action moindre, voire même nulle sur un autre.

On constate également que, l'extrait éthanoïque exerce une activité inhibitrice plus performante que celle de l'extrait aqueux, ceci peut s'expliquer par la capacité de l'éthanol à se propager dans la paroi et libérer les substances actives.

Cette activité antibactérienne peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait par des interactions spécifiques.

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimique riche en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne (Tim *et al.* , 2005).

Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés comme de très bons agents antimicrobiens (Harborne et Williams ., 2000).

Conclusion

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux deux modes de séchage (air libre et air chaud à deux températures 65°C et 75°C) de fruit *Pyracantha coccinea*.

Les cinétiques de séchage relatives aux deux procédés révèlent l'existence de deux phases : phase à vitesse constante et phase à vitesse décroissante (ralentissement).

Le screening phytochimique réalisé sur la poudre de fruit séché à air libre montre la présence de certains métabolites secondaires (alcaloïdes, glucosides, flavonoïdes, les tanins galliques, les tanins, les anthocyanes).

Les résultats de caractérisation physico-chimique des poudres séchées à différentes températures révèlent que, ce fruit a une humidité élevée qui est de (79,7% \pm 0.004), un pH légèrement acide, et une teneur faible en acidité titrable qui varie entre (0,483 \pm 0,030 g /100g MS et (1,137 \pm 0,116 g /100g MS), et en sucres totaux et réducteurs.

Ce fruit représente une source importante en vitamines C et en minéraux : Fe (5663,422 mg /l), Zn (508,6550 mg/l), Mg (25486,37 mg/l), Na (26569,95 mg/l), Mn (292,294mg/l), Cu (228,949 mg/l), cela lui confère ces qualités nutritionnelles.

L'analyse qualitative effectuée par (HPLC) a montré la présence de la quercétine dans notre fruit.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes a révélé que : les extraits éthanoïques présentent des teneurs plus élevées que ceux des extraits aqueux et le meilleur taux est obtenu pour la poudre issue de séchage à 75°C.

Les extraits des flavonoïdes de fruit séché à 65°C et à l'air libre qui ont subi des affrontements par des solvants à polarité croissante ont révélé que la fraction butanolique étudiée est la plus riche en flavonoïdes avec un taux de (4,38 mgEQ/g) pour le fruit séché à l'air libre et (2.89 mgEQ/g) pour le fruit séché à 65 °C.

L'analyse de la structure microscopique des trois poudres révèle que celle obtenue à 65°C est très intéressante de point de vue propriétés pharmacodynamique des poudres fonctionnelles.

Les résultats de l'activité antimicrobienne obtenus ont montré que : tous les extraits de fruits séchés à 75 et 65°C et à air libre ont présenté une activité antibactérienne contre les souches testées sauf l'extrait aqueux issu de fruit séché à air chaud. Ainsi, la meilleure zone d'inhibition (23,5 \pm 2,6 mm) est observée pour l'extrait éthanoïque à base de fruit séché à 75°C vis-à-vis *E. coli* ATCC 25322. Quant à l'activité anti fongique seul l'extrait éthanoïque séché à l'air libre et à 75°C qu'a révélé une inhibition de (11,1 \pm 0,7mm) (12,8 \pm 1mm) vis-à-vis d'*Aspergillus Niger*, tous les extraits éthanoïques présentent une activité anti fongique avec

un diamètre ($16,1\pm 3,7\text{mm}$), ($16,3\pm 1,7\text{mm}$), ($13,3\pm 0,4\text{mm}$) respectivement air libre, 75°C , 65°C . Aucun de ces extraits aqueux ne présente une activité inhibitrice.

D'après ces résultats on constate que la poudre séchées a 75°C présente une meilleure activité vue sa richesse e flavonoïdes et e polyphénols.

Pour la suite, il serait intéressant d'approfondir la présente étude en touchant les points suivants :

- L'application d'autres procédés de séchage tels que : la DIC (Détente Instantanée contrôlée)
- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antibactérienne des composés poly phénoliques en général et des flavonoïdes en particulier.
- Sensibilisation des gens aux vertus thérapeutiques de la plante qui sont méconnues par la population algérienne.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être une alternative aux médicaments synthétiques.
- Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel *in vivo* sur des modèles animaux. Une recherche de l'agent antibactérien responsable de l'inhibition est aussi nécessaire et semble d'une grande importance.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Références bibliographiques

- **Anonyme. (1998).** Rational phyto therapy. A physicians guide to herbal medecine. 3éme édition. Springer-Verlage. Germany. 218.
- **Antony C. (2005).** A review of Zizyphus Spina Christi.Technical (Ed) disponible sur Zizyphus spina ,Chrusti,paper.pdf.
- **Atik F., Bousmaha L., Taleb B, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007).**Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. **7**: 6-11.
- **AudigieC.,FiggrellaJ.,ZonsizainF.(1978).**Manipulationd'analyse biochimique.Doin(Ed).Paris, 247p.
- **Babar A,M., Hahn E.J. ,Paek mK.Y.(2007).** Methyl Jasmonate and Salcylic Acid Introduced oxidative Stress and Accumulation of phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures.*Molecules*.12:607-621.
- **Bamforth CW. (2000).**Perceptions of beer foam .J.Inst.brew.106:229-38.
- **Batawita K.,Konkon K.,Akapagona K.,Koumaglo K.,Bouchet P.(2002).**Fungicide activity of a theated species from togo flora: *Conyza aegytiaca*(L. Ait .var.lineariloba (DC.) O Hoffm. (Asterceae).Acta Blot.Gal.149 (1):41-8.
- **Belghith A., Azzouz S., Elcafsi A. (2013).** modélisation mathématique des cinétiques de séchage en couches minces des tomates.
- **Bekir J., Mars M., Souchard J P., Bouajila J.(2013).**Assessment of antioxidant, anti inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate(*Punica granatum*) leaves.Food and chemical Toxicology.55,470-475.
- **Benahmad Djilali A., Nabiev M., Gelicus A., Salem B S., Allaf K. (2016).**Evaluation of phesical-chemical, pharmacodynamic and pharmacological attributes of hot air dried and swell dried jujube powders. *Journal of Food process engineering* issn. 1745-4530.
- **Benahmad Djilali A. (2012).**Analyse des aptitudes technologique de poudre de dattes (*Phoenix-dactylifera*) améliorées par la spiruline .Etude des propriétés rhéologiques nutritionnelles et antibactériennes.
- **Benjelali B., Tantaoui E A., Esmaili-Alaoui M. (1986).**Méthodes d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gelosé.Planta médicinales et phytherapie, 20,155-167.

Références bibliographiques

- **Benhammou N; Atik Bekkara F; Kadifkova P. (2008).**Antiradical capacity of the phenol compounds of *Pistacia Lentiscus L.* and *Pistacia atlantica* Desf, *Advances in Food Sciences.* 29(3), 155-161.
- **Bouakaz I. (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala* – Mémoire de magister. Batna.
- **Bimbenet J.J. (1978).** Case drying in Agriculture and Food Industries, Book of the Food Industrial Engineering.
- **Biozot N et Charpentier J.P. (2006).**Méthode rapide d'évaluation du contenu en composé phénolique des organes d'un arbre foustier.*Le cahier des techniques de l'Inra.*p 79.82. (cited in Djemai zoueglache S, 2008).
- **Boudraa S. (2008).**Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de *Celtis australis L.*, *Crataegus azarolus L.*, *Crataegus monogyna Jacq.*,*Elaeagnus angustifolia L.*et *Zizyphus lotus L.*MAGISTER. Université El Hadj Lakhdar.Batna.
- **Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., et Gontier E.(2001).**Production of plant Secondary metabolites: a historical perspective; *Plant Science*, 161: 839 -851.
- **Bruneton J. (1999)** les tannins. Ed. Edition médicales internationales. Paris.369-404.
- **Brunton J. (1999).** Pharmacognosie, Pytochimie, plantes médicinales.3^{ème} Edition .Tec & Doc (Ed).Paris .575p.
- **Cal_TPC** see California invasive plant Council.
- **Calting P.M., Oldham M.J. (2010).**Everlasting thorn (*Pyracantha coccinea*), another woody invasive for Ontario. Retrieved 3 August 2010 from WWW.ou.edu/cas/botany-micro:ben:ben425.html.
- **Carpentier JP. (1996):**modalisation de rendement de la production des bétulaies jaunes a resineux.memoire de recherche forestiere.N°121.Gouvernement du Qubec.Edition : Cap-saint-Ignac et Sainte Marie(Beauce),235p.
- **Catoire C.,Zwang H., Bouet C .(1999).** Les jujubiers ou zizyphus fruits publié articles N°1.
- **Cengiz S. (2015).** Biological activity and phytochemistry of firethorn (*Pyracantha coccinea* M.J.Roemer). *Journal of functional food* .19,(2015) 669-675.
- **Chalal N. (2007).**Etude d'un séchoir solaire fonctionnant en mode direct et indirect .Magister. Université Mantouri. Constantine.

Références bibliographiques

- **Chaudhry P.S ., Cabrera J., Julian H.R.,Varma S.D.(1983).**Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, Sulindac and indomethacin. *Biochem pharmacol.*32: 1995.
- **Christophe C. (2003).** Etude des fluides frigorigènes. Mesures et Modélisations, Thèse en Génie des procédés, Ecole des Mines de Paris.
- **Couplan F. (1998).**Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées .Nestlé(Ed).Paris, 255p.
- **Dacosta E. (2003).** Les phytonutriments bioactifs.Yves Dacosta(Ed).Paris.317p.
- **Dagnelie P. (1993) :** théories et méthodes statistiques. Application agricoles. Edition : Presses universitaires de Gembloux (Belgique). Volume1 : 445p et volume 2 :378p.
- **Dahou N.,Yamnik K. ,Tahrouch S.,Idrissi L M.,Badoc A.& Gmira N.(2013).** Screening phytochimique d'une espèce endémique Ibéro-Marocaine *Thymelaea lythroides*.Bulletin de la société de Pharmacie de Bordeaux.142, 61-78.
- **Dangles O., Stockel C.,Wigand MC ., Brouillard R.(1992).**Two very distinct types of anthocyanin complexations Copigmentation and inclusion .*Tetrahedron Lett.*33:5227-30.
- **Da silva E.J.A.,Oliveira A.B.,Lapa A.J.(1994).**Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and coumestrol, in rats and mice.*J.Pharm.Pharmacol.*46(2):118-22.
- **Decloitre F. (1993).**Impact des facteurs alimentaires sur les mécanismes de la cancérogénèse à base d'une prévention des cancers par l'alimentation. *Cahiers de nutrition et de diététique.* 28(2) : 85-95.
- **Dewhalley C.V.,Rankin S.M., Gault J.R.S., Jessu W.W.,Leake D.S.(1990).**Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophage.*Biochim.Pharmacol.* 39(11):1743-50.
- **Di carlo G.,Mascolo N.,Izzo A.,Capasso .(1999).**F.flavonoids :old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs .*Review.life sci .*65 :337-53.
- **Djebnoun (2011).**Etude théorique et expérimentale des performances d'un séchoir couplé à un capteur solaire plan à air. Mémoire d'obtention du diplôme de Magister en énergétique. Université Mohamed Khider – Biskra.

Références bibliographiques

- **Druyne T. (1999).**condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochem .Styst.Ecol.*27 (4):445-59.
- **Elâgoun S. (2003).** Extraction des métabolites secondaire a partir d'une plante appartienne a la famille des lamiacées et étude leur activité antibactérienne. Magister. Université Mentouri Constantine.
- **El Hisse M. (1987).**modélisation identification et stimulation d'un séchoir solaire, agroalimentaire, thèse de doctorat, université de Perpignan p125.
- **Emerenciano V.P.,Barbosa K.O.,Scotti M.T., Ferriro M.J.P.(2007).**Self organising maps in chematosconomic studies of Asteraceae :a classification of tribes using flavonoid data .*journal of brazilian chemical soiciety* .18(5) :891.899.
- **Erdman J.,Balentine J.D.,Arab L.,Beecher G.,Dwyer J.T.,Folts J ., Harnly.,Hollman J.P.,L-Keen C.,Mazza G.,Messina M., Sclabert A.,Vita J., Williamson G.et Burrows J.(2007).**Flavonoids and heart health: proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop,may 31-june 1,2005,Washington *Journal of Nutrition* .137(3 supp 1): 718 S-737 S.
- **Espiard E. (2002).** Introduction a la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc Lavoisier. pp 147-155.
- **Falleh H .,Ksouri R.,Chaieb K., Karray-Bouraoui N.,Trablsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008).** Phenolic Composition of cynara cardunculus L.organs,and their biological activites .*C.R.Biologies.*331 :372-379.
- **Farkas V. (1985).** Ultra structural cytology of pathogenic fungi .In: Howard .D.H. (Ed).*Fungal protoplasts .application in Biochemistry and genetics.*3-30.Marcel Dekker New York.
- **Fesen M.R., Pommier Y., Leteurtre F., Hiroguchi S., Young's.,Kohn K. (1994).**Inhibition of HIV -1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds *Biochem. Pharamcol.*48(3):595-608.
- **Fontanille M., Gnonou Y. (1994).**Technique de l'ingenieur « Structure moleculaire et morphologique des plymeres ».1-27.
- **Galati E.M., Monfort M.T., Kirjavainen S., Forestieri A.M ., Trovato A., Tripodo M.M. (1994).** Biologocal effects of hespiridin, a citrus flavonoid. (NoteI): anti-inflammatory and analgesic activity.*Farmaco.* 40(11):709-12.

Références bibliographiques

- **Gamet –Pyraste ., L Manenti S., Grtacap ., M.P Tulliez ., J chap H ., Pyrastre B. (1999).** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3- kinas' – General Pharmacology .32: 279- 286.
- **Gauthier A. (1999).**Industries alimentaire et agricoles ; citée par **Bennamon .L.**
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A-M. (2001).**Le préparateur en pharmacie .Dossier 2. (Ed) Tecet Doc, Paris.275p.
- **Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraz-Roman D., Segura-carretero A., Fernandez-Gutierrez A. (2006).**Advances in the analysis of phenolics compounds in products derived from bees. J.Pharmaceutical and Biomedical Analysis .41:1220-1234.
- **Gonzalez-Galleyo J., Sanchez–Campos S., Tunon M.J. (2007).**Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids.
- **Gonzalez T. (2007).**Nutrici in hospitalaria .22(3): 287-293.
- **Gounot M. (1969) :** Méthodes d'études quantitatives de la végétation. Edition : Masson et cie, Paris, 314p.
- **Grace K Pereira., Paulo M. Donate., Sergio E. Galmbeck E. (1996).**Electronic structure hydroxylated derivatives of the flavylum cation, Journal of Molecular Structure(Thochem).
- **Grosskinsky B. , Gullik C. (2000)** Exploring the potential of Indigenous Wild Food Plants in Southern Sudan USDA(Ed), Sudan. 111p.
- **Grotewold K., Pereira., Paulom., Donate., Sergioe. (2006).**The science of flavonoids, springer.
- **Harborne J.B., Williams C.A. (2000).**Advances in flavonoid research since 1992 phytochemistry.55 :481-504.
- **Harborn J. B.; Williams's C. A. (1994).**Recent advances in the chemosystematics of the monocotyledons. Photochemistry. Vol. 37: 3-18.
- **Harisoamahefa H. (2013).** Etude des modalités de séchage de fruits et légumes au moyen du séchoir solaire BOARA ; Qualité nutritionnelle et microbiologique des produits obtenus. Doctorat. Université d'Antananarivo.
- **Hargerman AE., Riedl KM ., Jones GA., Sovik KN., Ritchard NT., Hartzfeld PW., Richel TL. (1998).**High molecular weight plant polyphenolics(Tannins) as biological antioxidants .J.Agric.Food Chem.46:1998-92.

Références bibliographiques

- **Havsteen B.H. (2002).**The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* 96:67 – 202.
- **Hollman P.C.H. (2001).**Evidence for health benefits of plants phenols:local or systemic effects.jornal of the science of food and agriculture.81:825-842.
- **Hodek P., Trefil P.,Stiborova M.(2002)** flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chimico-biological interactions.* 139:1-21.
- **Isono., Kand., Suzuki S. (1979).** The polyxins, pyrimidine nucleoside, peptide antibiotics inhibiting fungal cell wall biosynthesis. *Heterocycles.*13:333-51.
- **Izzo A. (1996).**A.PAF and the digestive tract. A review.*J.Pharm Pharmacol.*48:1103-11.
- **Kar A. (2007).**Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: NEW AGE international publishers: 1 -30.
- **Karali A.,Boyacioălu D.,Güney G.et Ôzcelik B.(2004).**Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality nutrition and health_STREP or CA.European Commision’s the 6th framework programme for research .Istabil technical university.Turkey.
- **Kechaou N. (2000).** Etude théorique et expérimentale du processus de séchage de produits agroalimentaires, Thèse d’état ès-Sciences Physiques, Faculté des Sciences de Tunis.
- **Kemp et al. (2001):** Nutrient enrichment, habitat variability and trophic transfer efficiency in simple models of pelagic. *Ecosystems.Mar.Ecol.Prog.Scr.*
- **Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and Valadimir-Kneg EICS. (2004).**Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia- *Acta Pharn.* 54:65-72.
- **Kumar U.,Kumar B.,Bhandari A.& Kumar Y.(2010).**Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of clove and cardamom.*International journal of Pharmaceutical Sciences and Research .1,138-147.*
- **Kuster R.M.,Arnold N.,Wessjohann L.(2009).**Anti.fungal flavonoids from *Tibouchina grandifolia*.*Biochem Syst .Ecol.*2009,37(1) :63-5.

Références bibliographiques

- **Lahlah F.Z.(2008).**Extraction des flavonoïdes par le butanol et le chloroforme a partir de *Silybum marianum* et étude de leur activité antimicrobienne .Magister. Université Mentouri-Constantine.
- **Laughton M.J .,Halliwell B., Evans P.J., Hoult J.,Robin S.(1989).**Antioxydant and pro-oxxydant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetine. *Biochem. Pharmacol.*38(17) :2859-2865.
- **Louini S. (2013).**Etude phytochimique et activité biologique d'extrait des feuilles de *Phoenix dactylifera L* dans la région du sud d'Algérie (la région d'oued Souf) .Doctorat. Université Mohamed Khider Biskra.
- **Lucienne A. (2013).**les plantes médicinales d'Algérie (3^{ème} édition),Berti Edition.
- **Mahmood N.,Pizza C.,Aquino R.,Detommasi.N.,Piacente S.,Colman S.,Burke A.,Hay A.J.(1993).**Inhibition of HIV infection by flavonoids *Antivir.Res.*46 (7): 1257-71.
- **Mafart P. (1991).** Génie Industriel Alimentaire, Tom 1.Les procédés physiques de conservation, Edition Lavoisier Tec et Doc, Série Aprie, pp295.
- **Malasev D., Kuntic V. (2007).**Investing of metal.flavonoids chelates and the determination of flavonoid complexing reactions.*Journal of the serbian chemical society.*72 (10):921-939.
- **Manthey.,Fleuriet A.,Macheix J.J . , Sarni M.(2005).**Les compses phenoliques dans la plante: Structure, Biosynthèse ,Répartition et roles.In :Les polyphénols en agroalimentaires. Eds, Tech & Doc, Lavoisier, Paris.32, 150.153-155,160-161.
- **Martini M.C. (2006).** Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. P 331.
- **Martin S ., Andrantsitohaina R.(2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphenols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie* .51:304-315.
- **Mazza. (2000).**Programme de recherche alimentaires, Agriculture et agroalimentaire canada. Numéro spécial du *Journal of Food .Science and Agriculture* .80(7).
- **Mendezlagunas L. (2007).**L'effet des conditions variables de séchage sur la cinétique de séchage et la qualité de l'ail. These. Université LAVAL.QUEBEC.
- **Mdamba P. S ., Driscoll R.H ., Buckle K.A. (1996).** shirinkage, density and porosity of garlic during .*J.Food Eng.*23 (33), 309-319.
- **Middleton E.J ., Drzewiecki G. (1984).** flavonoid inhibition of human basophile histamine release stimulated by various agents. *Biochem. pharmacol.*33 (21): 3333-8.

Références bibliographiques

- **Ming H. (2007).**Commentary: bioavailability of flavonoids and polyphénols: call to arms. *Molecular pharmaceutics*. 4(6):803-806.
- **Mookerjee B.K., Lee.T.P., logue G.P., Lippes H.A., Middleton. (1986).**the effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. clin. Biolo. Res.*213: 511-20.
- **Morikawa K.,Nonaka M., Mochizukih., Handa K.(2008).** Naringenin and hespérinte induce growth arrest, apoptosis, and cytoplasmic fat deposit in human preadipocytes.*J.Agric.Food Chem.*56 (22):11030-7.
- **Mucsi I. (1985).**Paragai.B.M.Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids .*Experienta.*41 (7):930-1
- **Namgoong S.Y., Son .K.H., chang H.W., Kang S.S., Kin H.P. (1994).**Effects naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life sci.*54 (5): 313-20.
- **Narayana K.R.,Reddy M.S.,Chludadi M.R., Krishna D.R.(2001).**Bioflavonoids classification,pharmacological,biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of pharmacology.*33:2-16.
- **Nedjni A., Sousou A. (2014).**Caractérisation biochimique de quelques plantes spontanées médicinales à travers des différents modes de séchage .Master. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- **Nesom G.L. (2010).** *Pyracantha* (Rosaceae) naturalized in Texas and the southeastern United States,*Phytoneuron* .2010-2:1-6.
- **Nijveldt R.J., Van Nood E.,Van Hoorn D.E.C. , Boelens P.G.,Van Norren K.et Van Leewwen P.A.M.(2001).** Flavonoides: a review of probable mechanisms of action and potential applications .*American journal of clinical nutrition* .74:418-425.
- **NF V 05-101. (1974).**Produits dérivés des fruits et légumes. Détermination de l'acidité titrable.
- **NF V 05-113. (1972).** Détermination des cendres totales. Vol 49, n°4,289-298.
- **Nutra news. (2003).** Information et actualité santé, nutrition, prévention du vieillissement –htm.
- **Ohemeng K.A.,Schwender C.F., Fu K.P., Barrett J.F.(1933).**DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones.*Bioorg.Med.Chem.Lett.*3(2):225-30.

Références bibliographiques

- **Ono K.(1990).**Nakane .H,Fukushima.M,Cherman.J.C,Barre-sinoussi.F.Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases Eur.J.Biochem.190(3):469 – 76.
- **Ono K. (1990).**Nakane .H.Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids .J.Biochem.108 (4):609-13.
- **Ong K C.,H E.Khoo .(1997).**Biological Effects of Myricetin. General pharmacol. 29: 121-126.
- **Ong K.C., H E.Khoo (2000).** Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. Life sci. 67: 1695-1705.
- **Ortuno A.,Baidez A.,Gomez P., Arcas Mc.,Porras I.,Garcia Lidon A.,Del Rio JA.(2006).**Citrus paradisi and citrus sinensis flavonoids : Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*.Food chem .98(2) :351-8.
- **Ouaouich A.,Osakw A.,Chimi H.(2005).**Guide du constructeur du séchoir hybride.maroc.edition1.pp 4-5
- **O Kricher et K Kroll. (1963).**technique de séchage, 2^{ème} édition de « Die Wissenschaftlichen Grundlagen Der Torcknungstecnick »,Springer Verlag(1956) »traduite par Cetiat,orsay.
- **Ozgan M.,Haciseferog H., Marakog T-M., Arslam D. (2005).** Hawthorn(*Crataegus* Spp.) fruit : some physical and chemical proprties. Journal of Food Engineering. 69:409-413.
- **Pezzutti A., Crapiste G.H. (1997).** Scorpional equilibrium and drying characteristics of garlic.J.Food Eng.31, 113-123.
- **Piers see** pacific Islandas Ecosystems at Risk.
- **Pincemail J., Meurisse M., Imet R.L., Defraigne J.O. (1999).**Especies Oxygenées,antioxydants et cancer. Vaisseaux, cœur, poumons, 4(4).
- **PiquemalG.(2008).**Les flavonoïdes (enligne):<http://www.detoursante.com/index.php>. Option : com,content & view :article &id :166 & Itemi 15.
- **Pitta PG. (2000).** Flavonoïdes as antioxydants .J.Nat. Prod.63(7), 1035-42.
- **Poernemo A.,Giyatmi F.Y.N .,Ariyani F. (1992).**Salting and Drying of Mackerel (*Rastrelliger Kanagusta*).ASEAN.Food.Journal.vol 17, N°3, p 141-146.
- **Ponce A G .,Frity R., Delvalle C. et Roura S I.(2003).** Antimicrobiol activity of essential oils on the native microflora of organic Suisse chard. Lebensmittelwisse schaftund technologic. 36,679 –684.

Références bibliographiques

- **Ramassamy C. (2006).** Emerging role of polyphenolic compounds in treatment of neurodegenerative disease .A review of their intracellular targets .European pharmacology 545:51-64.
- **Ramos M., Santos E.P., Bizarri C.H.B ., Mattos H.A., Padilha M.R.S., Durate H. (1996).** Preliminary studies toward utilization of various plant extracts as antisolar agents. International journal of cosmetic science. 18: 87-101.
- **Read M.A. (1995).** Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents vascular. Am.J.Pthol. 147 (2): 235-7.
- **Roche P ., Tatoni T., and Medcil F. (1998).** Relative importance of abiotic and land use factors in explaining Variation in Woody Vegetation in a French rural landscape .Jornal of Vegetation science. 9(2):221-228.
- **Rouessac F., Rouessac A. (2006).** Analyse chimique, Méthodes et techniques instrumentales modernes. DUNOD(Ed). Paris, 462 p.
- **Roux J.L. (1994).** conserver les aliments, comparaison des méthodes et technologies.
- **Ribereau Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux .Dunod.Paris.
- **Sainclivier M. (1985).** Halieutic Food Industry, Scientific and Technical bulletin of the ensar. vol 2, pp 163-218.
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire ,Ed.Lavoisier(Tec & Doc). Paris. 300-398.
- **Sasaki K., Takahashi T.A. (2002).** Flavonoid from Brassica rapa flowers as the UV-absorbing nectac guide .Phytochem. 61(3):339-43.
- **Sato M., Tsuchiya H., Takase I., Kunrestiro H., Tanigaki S., Inuma (1995).** Antibacterial activity of flavanone isolated from Sophora exigua against methicilin-resistant Staphylococcus aureus and its combination with antibiotics .Phytother .Res. 9(7):509-12.
- **Seyoum A., Asres K., El Fiky F.K. (2006).** Structure .radical scavenging activity relationships of flavonoids .Journal of phytochemistry .67 :2058-2070.
- **Scalbert Augustin. (2004).** Fruit et légumes, polyphénols et santé. Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, centre de recherche de Clermont.
- **Schieltl FP., Ayasse M., Paulus HF., LÖfstedt C., Hansson BS ., Ibarra F., Francke W. (2000).** Sex pheromone mimicry in the early spider orchid (*Ophrys*

Références bibliographiques

sphagodes): patterns of hydrocarbons as the key mechanism for pollination by sexual deception .J.Comp.Physiol.Sensory Naural Behav.Physiol.186(6):567-74.

- **Sharm G.P.,Prasad S.(2001)**. Drying of garlic (*Allium Sativum*) cloves by microwave-hot air combination.J.Food Eng. 50(2), 99-105.
- **Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R., Lamuela-Raventos R. M.(1999)**.Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin ciocalteu reagent. Method. Enzymol. 299,152-17.
- **Speding G.,Ratty A.,Middleton E.J.(1989)**.Inhibition of reserve transcriptases by flavonoids.Antivir. Res.12(2):99-110
- **Steve C.,Jason W., Yucham Z .octobre.(2011)**.Firethorn *Pyracantha* species. Departement of Employment .Economic Development and innovation.p 6-8.
- **Svoboda K., Svoboda T. (2000)**. Secretory structures of aromatic and medicinal plants; Ed:microscopix publications: 7-12.
- **Tieppo J.,Vercelino R.,Dias A.S.,Silva Vaz M.F., ilveira T.R., Marroni C.A., Marroni,P.,J A.P., Picada J.N.(2007)**.Evaluation of the protective effects of quercetine in the hepatopulmonary syndrome.Food and chemical toxicology.45:1140-1146.
- **Tie ppe J.,Vercelino -R ., Dias A.S. , Silva vaz M.F., Sileveira T.R.,Marroni C.A., Marroni N.P. Henriques J .A.P. , Picada J.N. (2005)**. Evaluation of the protective effects of quercetine in the hepatopulmonary syndrome .Food and Chiminal Toscopicology .45:1140-1146.research.33 (22):55-64.
- **Tim C.T.P., Adrew J.L. (2005)** .Antimicrobial,activity,flavonoids .Int.J.Antimicrob.Ag.26:343-356.
- **Tomofuji T .,Ekuni D ., Irie K ., Azuma T ., Endo Y ., Tamaki N., Sanbe T., Murakami J.,Yamamoto T .,Morita M.(2009)**.Prevent effects of a cacao-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis.J.80(11) :1799-808.
- **Touati B. (2008)**.étude théorique et expérimentale du séchage solaire des feuilles de la menthe verte (*menthe viridis*), thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. Lyon.
- **Urquiage I., Leighton F.(2000)**.Plant polyphénols antioxidants and ocsidative stress. Biological research. 33(2):55-64.

Références bibliographiques

- **Usda. (2010).**Plans profile:Pyracantha angustifolia(Franch) C.K.Scheid .narrowleaf firethorn.Retrieved on 7 August 2010 from <http://plants.usda.gov/java/profil> symbol:PYAN.
- **Van acker S ; A B.E ;Tromp M ;N J.L. ;Haenen G ; R M.M. ;Van der vijgh W ;J F. ; Bast A.(1995).**Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical.Biochen.Biophy.Res.Co.214(3):755-9.
- **Van Meel D. A. (1958).** Adiabatic convection batch drying with recirculation of air, Chemistry Engineering Science, 9.
- **Villabos A.E.,Vazquez D.P., Martin J-L. (2010).** Soil disturbanc , Vegetation Cover and the establishment of the exotic shrub Pyracantha coccinea in sou ther Franc .Biological invasions. 12 (5): 1023-1029.
- **Virginia Thec. (2010).** Scarlet filthorn.Departement of Forest Resources and Environnemental Conservation.
- **Vrijzen R.E.L.,Van hoof.L.M.,Vlietinck A.J.,Vanden berghe D.A., Boeye A.(1987).**The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis in the presence of 3- méthylquercetin,a flavonoid witch blocks viral protein and RNA synthesis.Antivir.Res.(1):35-42.
- **Wells M.J., Balasinhas A. A., Joffe H., Engelbrecht V M., Harding G. and sitirtion C.H. (1986).** A catalogue of problem plants in southern Africa. Memoirs of the Botanical survey of Sou them Africa No. 53, botanical research institute South Africa.P.440.
- **Wissemann H. (1999).**the bioavailability of non-nutrient plant factors: dietary flavonoids and phyto-oestrogens.proceding and nutrition society. 58:139-146.
- **Xiwen L. and walker D. (1986).**The plant geography of Yunnan province, sou thwest china. Journal of Biogeography. 13(5): 367 -397.
- **Xu Y.C., Leung D.K.Y., Hu L.H., chen G.H., Chen C.M., Man R.Y.K.,(2007)** Structure-activity relationships of flavonoids for vascularrelascation in porcine coronary artery.phytochemistry.68:1179-1188.
- **Yang R.Y.,Lin S.et Kuo G.(2008).**Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plantes species.Asia of pacific journal of clinical nutrition.257.279.
- **Yi-Cai FU., Xi-Peng JIN.,Shao-Min MEI., Hui-Feng LIN.,Sam K.(2000).**Ultraviolet radiation and reactive oxygen generation as inducers if

Références bibliographiques

keratinocyte,apoptosis:Protective,role,of,tea,polyphenols.J.Toxicol.Environ.Health.61(3):177-88.

- **Zeghad N. (2009).** Etude du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus Vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibacterinne.Magister.Universite Mentouri Constantine.
- <https://fr.wikipedia.org/wiki/Pyracantha>.
- <se4ddb01bfff734de.jimcontent.com/download/version/.../fiche%207-rosacees.pdf>.
- <WWW.detoursante.com./flavo-perso.htm>.

ANNEXES

Annexe I

Tableau 1: Appareillages, solvants, réactif chimiques et milieux de culture, appareillages utilises pour l'activité antimicrobienne, matériels, solution.

Appareillages, Verrerie de laboratoire	Solvant	Milieu de culture
<p>Balance de précision 0.001g (KERN 770) Bain-marie, Étuve (MEMMERT) Four à moufle (NABERTHERM) Broyeur électrique (moulin à café) Pied à coulisse Microscope électronique à balayage (PHILIPS ESEM XL 30) pH- mètre (INOLAB) Plaque chauffante (RYPA) Rotavapor (STUART) Spectrophotomètre visible (EV 9200) Réfrigérateur béchers, burettes, fiole, ampoule à décanter entonnoir, flacons, pipette gradée, Pipette pasteur cristallisoirs, éprouvettes, tubes à essai ...etc.). creusets en porcelaine Mortier, pilon, verre de montre, tamis, papiers filtres, spatule, passoire, cuves.</p>	<p>Acide chlorhydrique Ammoniaque Acétate de sodium Acide gallique Acide sulfurique Acétate d'éthyle Acétate de plomb Acide benzoïque Acide gallique Chloroforme Carbonate de calcium Chlorure d'aluminium Carbonate de sodium Eau distillée Bleue de méthylène Solution d'iode Éthanol Éther di éthylique Hydroxyde de sodium, N-butanol Méthanol Magnésium Sulfate d'aluminium Sulfate de sodium anhydre Réactif de Dragendroff Réactif du Folin-Ciocalteu Quercetine BHT Sulfate de cuivre</p>	<p>-Muller Hinton(MH) : Extrait de viandes 05g Hydrolisation acide de Caséine 10g Agar 05g -Gélose nutritive(GN) : Extrait de viande 05g Peptone 10g Chlorure de sodium 05 Agar 15g -milieux sabouraud : Glucose 20g Extrait de levure 05g Peptone 10g Eau distillée 1000ml</p>
Appareillages utilisés pour l'activité antimicrobienne	Matériels	Solution
<p>Autoclave de paillasse (WEBECO) Bain-marie (MEMMERT) Étuves bactériologiques (MEMMERT) : Etuve 37°C et Etuve 28°C Spectrophotomètre visible (MEDLINE) Réfrigérateur.</p>	<p>Anse de platine, bec bunsen, boites de Pétri, cuves, disques stériles (papier Wattmann), écouvillons, embouts en plastiques stériles, micropipettes, pince, pipettes Pasteur, portoir pour tubes. tubes à essai</p>	<p>Eau distillée Eau physiologique stérile (9 g/l) Eau de javel</p>

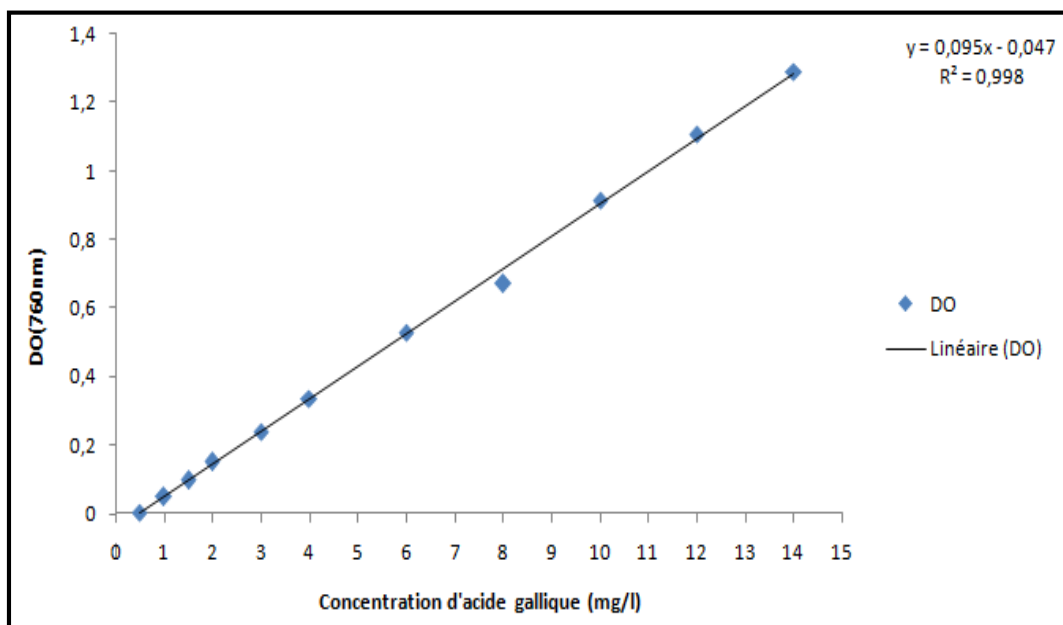
Annexe 2

1. Préparation de la gamme d'étalonnage des polyphénols

On fait dissoudre 200 mg d'acide gallique dans 100 ml d'éthanol, soit une solution mère (s_1) ensuite, on réalise une série de dilution de cette solution comme suit :

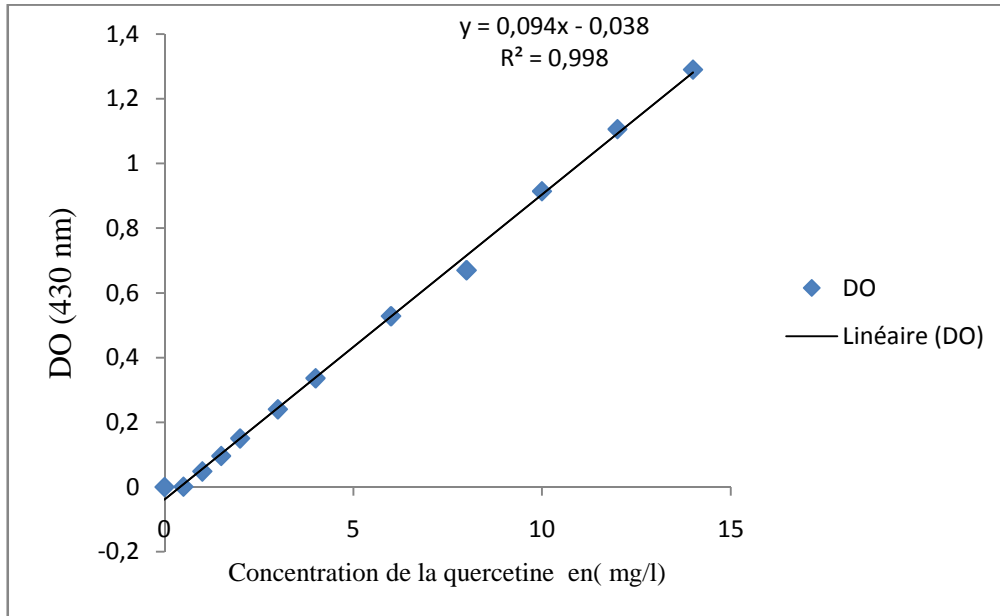
1. On prélève 5 ml de la solution mère puis on additionne 5 ml de l'eau distillée en obtient la solution de la dilution $S_1/2$.
2. On prélève 5 ml de la solution précédente $S_1/2$ puis on ajoute 5 ml de l'eau distillée et on obtient la solution $S_1/4$
3. On procède de la même manière pour les autres dilutions
4. Ajouter à tous les tubes 0.5 ml du réactif Folin-Ciocalteu, et ce à l'abri de la lumière.
5. Laisser agir 5 min.
6. Ajouter 0.5 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (20%).
7. Incuber à l'abri de la lumière et à la température ambiante pendant 1 heure. L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc (sans acide gallique).

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Concentration	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	14
DO	0,001	0,0048	0,0096	0,15	0,24	0,336	0,528	0,67	0,914	1,106	1,29



2. Préparation de la gamme d'étalonnage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercétine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg EQ/g d'extrait.



Annexe 3

Formules utilisées

Calcul de la moyenne :

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

Calcul de la variance :

$$\partial^2 = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Calcul de l'écart-type :

$$\partial = \sqrt{\partial^2}$$

Coefficient de variation :

$$CV\% = \frac{\partial}{\bar{x}} \cdot 100$$

Calcul de l'intervalle de confiance :

$$d = t_{1-\alpha/2} \cdot \frac{\partial}{\sqrt{N}}$$

Calcul de l'erreur relative à la moyenne :

$$dr\% = t_{1-\alpha/2} \cdot \frac{CV\%}{\sqrt{N}}$$

N : nombre des échantillons

Analyse de la variance :

$$F_{obs} = \frac{CMf}{CMR}$$

Avec

F_{obs} : fréquence observée

CMf : carré moyen factoriel

CMR : carré moyen résiduel

F_{th} de snedecol : fréquence théorique (table de Snedecor) avec $K_1 = d \cdot dl_{factoriel}$ et $K_2 = d \cdot dl_{résiduelle}$

Test de comparaison de Student

$$\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2 \text{ Si } \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{\partial_1^2}{n_1} + \frac{\partial_2^2}{n_2}}} \geq t_{student}(\text{table de student})$$

avec $P = 0,975$ et $K = ddl = (n_1 + n_2) - 2$

- **Test de la plus petite différence significative (PPDS)**

Test de Gupta sobel

Coefficient de corrélation

$$r = \frac{SPE_{x,y}}{\sqrt{SCE_x \cdot SCE_y}}$$

$SPE_{x,y}$: Somme des produits des écarts x_i des par rapport à \bar{x} et des y_i par rapport à \bar{y}

SCE_x : Somme des carrés des écarts des x_i par rapport à \bar{x}

SCE_y : Somme des carrés des écarts des y_i par rapport à \bar{y}

Annexe 4

Les zones d'inhibition des différentes souches testées.

✓ *Escherichia coli*



Ethanol 75°C

Ethanol 65°C

Ethanol aire libre

✓ *Escherichia coli* ATCC 25322



Ethanol 75°C

Ethanol aire libre

Ethanol 65°C

✓ *Pseudomonas aeruginosa*

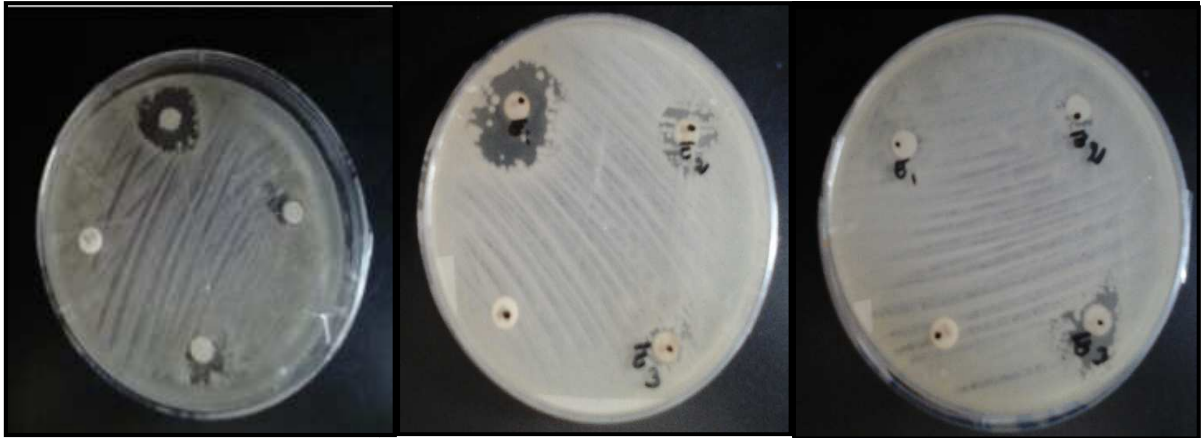


Ethanol 75°C

Ethanol aire libre

Ethanol 65°C

✓ *Klebsilla pneumonie*



Ethanol 75°C

Ethanol aire libre

Ethanol 65°C

✓ *Staphylococcus aureus*



Ethanol 75°C

Ethanol aire libre

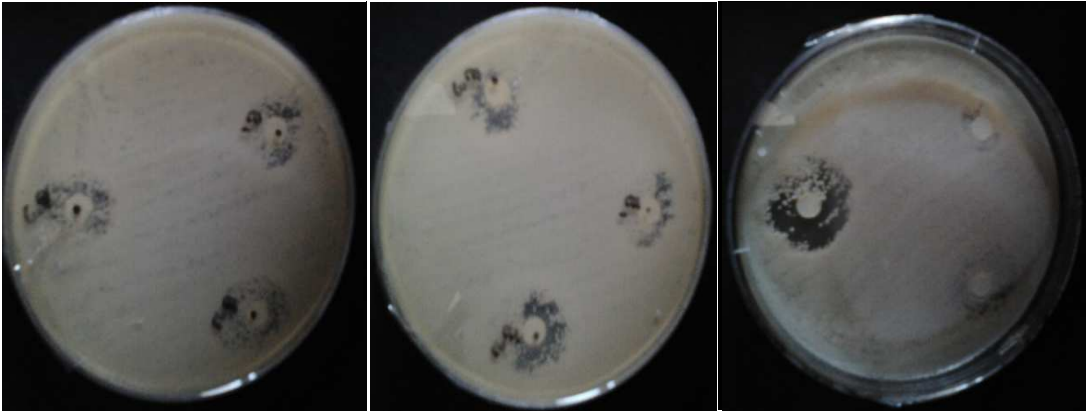
Eau distillé 65 °C

✓ *Aspergillus Niger*



Ethanol 75 °C

✓ *Candida albicans*



Ethanol 65°C

Ethanol 75°C

Ethanol l'air libre

Annexe 5

Préparation des solutions

- Liqueur Fehling A :

40g de sulfate de cuivre (CuSO_4) \longrightarrow 1000 ml d'eau distillée chauffé

- Liqueur Fehling B :

200g Na K \longrightarrow 1000ml

150g la soude \longrightarrow 1000ml

- L'acétate de plomb :

5g d'acétate de plomb \longrightarrow 100ml d'eau distillée

- Solution d'iode :

12.5g de l'iodate de potassium (K_1)
6.35g d'iode (I_2) } 1000ml d'eau distillée

- Solution HCl à 0.1N :

$N_1=10,18 \text{ N}$ $N_2=0,1\text{N}$

$V_1=1000\text{ml}$ $V_2= 9,82\text{ml}$

On prélève 9.82ml HCl on ajuste jusqu'à 1000ml avec l'eau distillée.

- Solution NaOH à 0,1N :

40g \longrightarrow 1N \longrightarrow 1000ml

\longleftarrow 0,1N

Résumé

Le fruit *Pyracantha coccinea* a été séché par deux modes à savoir l'air libre et l'air chaud à la pression atmosphérique à deux températures à 65 et 75°C. L'évaluation de certaines propriétés biochimiques (sucres, polyphénols,...), biologiques (activité antimicrobienne) des poudres obtenues a été réalisée.

Les résultats montrent que, ce fruit est riche en métabolites secondaires, principalement les polyphénols, Le meilleur rendement de ceux-ci est observé dans l'extrait éthanolique de fruit à l'état frais avec une teneur de (113,79±5,5 mg EAG/ g MS). Quant aux flavonoïdes, le meilleur rendement est obtenu en utilisant l'extrait de fruit séché à 75°C (52,97±1,75 mg EQ/g MS). Notamment, la fraction butanolique issue de fruit séché à l'air libre est la plus riche en flavonoïdes avec une teneur de (4,38 mg EQ/g). L'analyse qualitative des polyphénols par HPLC a révélé la présence de la quercétine +dans notre fruit.

L'effet inhibiteur le plus élevé est obtenu par l'action des extraits éthanoliques et qui ont présenté une forte activité antimicrobienne sur *E. coli* pour la poudre séché à 75°C.

Mots clés : *Pyracantha coccinea*, séchage, composés phénoliques, activité antibactérienne.

Abstract

The fruit *Pyracantha coccinea* has been dried through two process : in the open and in hot air under pressur and at two different temperatures,65°C and 75°C.The evaluation of certain biochemical properties such as (suger,polyphenols) and biological properties (antimicrobial properties) of the powder we obtained has been achieved.

The results show that this fruit is rich in secondary metabolites mainly the polyphénols, their best output is observed in the ethanoic extract of the previously mentioned of the fruit in fresh form with a content of (113,79±5,5 EAG/g MS). Concerning the flavonoids, the best output is obtained through the use of the extract of the fruit dried at 75°C (52, 97± 1, 75 mg EQ/g MS). In addition to this, the butanolic samde derived from the fruit dried in the open is the richest in flavonoids with a content of 4, 38 (mg EQ/g). The qualitative analysis of the polyphénols by the HPLC has revealed the presence of quercetine in the fruit.

The highest inhibitor effect is obtained through the action of the ethanoic extracts which have showed a strong antimicrobial activity upon *E.coli* for the powder drier at 75°C.

Key words: *Pyracantha coccinea*, drying, phenolic components, antibacterial activity.