

Université Mouloud Mammeri
Faculté de Médecine Tizi-Ouzou
Département de Pharmacie



جامعة مولود معمري
كلية الطب تيزي وزو
قسم الصيدلة

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Présenté et soutenu publiquement

Le : 15/09/2022

Thème:

*Optimisation d'une méthode d'extraction des composés phénoliques
dans les différents organes de figuier de barbarie :
Opuntia ficus indica (L)*

Réalisé par:

AIT AMMAR Samah

AMRANI Déhia

OUANNOUGHI Khadidja

Encadré par:

Dr. AKLI Karima

Co-encadré par:

Dr. BEN SI SAID Hassan

Membres du jury:

Pr. MAMOU Marzouk

MCAHU

UMMTO

Président de jury

Dr. AKLI Karima

Assistante en chimie analytique

Promotrice

Dr. BEN SI SAID Hassan

MAHU

UMMTO

Co-promoteur

Dr. SELLAH Nesrine

MAHU

UMMTO

Examinatrice

Remerciements

Au terme de ce travail :

Nous tenons à remercier tout d'abord Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la volonté afin d'accomplir ce modeste travail et qui nous a permis de voir ce jour tant attendu.

*Nous remercions profondément notre promotrice, **Dr AKLI**, assistante en chimie analytique, pour la confiance qu'elle a bien voulu de nous accorder en nous proposant ce thème, vous nous avez fait le grand honneur de nous confier ce travail.*

Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect. Nous espérons avoir été à la hauteur de votre confiance et de vos attentes.

*Nous voulons également remercier, notre Co-promoteur, **Dr BEN SI SAID**, maitre-assistant en chimie analytique, pour sa gentillesse, son soutien et sa permanente disponibilité, merci de nous avoir fait confiance, cru en nous et en ce projet. Merci pour votre écoute, vos précieux conseils et vos remarques qui ont été très bénéfiques. Merci de nous avoir redonné confiance dans les moments de doute. Nous vous serons toujours reconnaissantes.*

*Nos vifs remerciements aux résidents : **Dr CHEKROUN** et **Dr ABDENNOURI** pour le temps qu'ils ont consacré pour répondre à nos questions ainsi pour le savoir qu'ils ont partagé avec nous.*

Merci à tous ceux qui ont pris part à ce que notre pratique soit réalisable.

*Nous remercions également les membres de jury **Pr M. MAMOU** et **Dr N.SELLAH** pour le temps et l'énergie que vous avez consacrés pour évaluer notre travail et d'avoir eu l'amabilité de partager vos connaissances. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération.*

*Nous remercions profondément notre chef département et enseignant **Pr MAMOU**.*

Il nous est impossible de dire en quelques mots ce que nous vous devons. Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles. Vos encouragements inlassables, vos précieux conseils, votre disponibilité et votre gentillesse méritent toute admiration. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

Nos pensées vont à tous les enseignants qui ont participé à notre formation.

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

Dédicace

Je remercie le seigneur Allah, le très-Savant, de m'avoir donné la force et prodiguer le savoir pour atteindre mes objectifs.

Pour ces derniers moments et après six ans de mon cursus dans la faculté de médecine. Une page se tourne mais cette étape de mon parcours académique restera toujours gravée dans ma mémoire. Ce changement de cap, même s'il est voulu et stimulant, me remplit d'émotions au moment d'écrire ce message.

Honneur et grand plaisir de dédier ce modeste travail:

*A mes très chers parents «**Amar** et **Fatiha**», vous m'avez comblé avec votre tendresse et affection tout au long de mon cursus. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain. Vous étiez et vous resterez toujours une source d'inspiration pour moi. Aucune dédicace, ne saurait exprimer le profond amour que je vous porte. Mon profond respect, ma gratitude, ma reconnaissance, et mes sincères remerciements sont infinis pour vous. Que Dieu tout puissant vous garde pour moi et vous procure santé, bonheur et longue vie.*

*A mon seul et unique frère **Mohamed**, qui est mon exemple dans la vie et qui n'a jamais cessé de me soutenir et encourager. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite.*

*A mes adorables sœurs : **Ibtissem** et **Farah**, Qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant mes années d'études. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de sérénité. Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

*A ma petite nièce adorée : **Maram**.*

*A mon beau-frère : **Rafik** pour sa générosité et sa disponibilité à tout moment.*

*A Ma chère grand-mère maternelle «**Mama Wardiya**» : que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

*A l'âme de mes grands-parents, ma tante «**Fatiha**» et mon oncle «**Lyes**» que Dieu les accueille dans son vaste paradis.*

*À ma sœur de cœur et ma meilleure amie **Saida**, qui depuis des années m'encourage, me comprend et a toujours été à mes côtés, que dieu lui donne du bonheur, santé et réussite.*

*A mes oncles: **Mohamed**, **Karim** et **Samir** «**GABOUR**», mes tantes, cousins et cousines, pour leur soutien et leur tendresse.*

*A mes amies **Dehia** et **Khadidja**, un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis, c'était un grand plaisir de partager ce travail avec vous.*

A tous ceux dont l'oubli de la plume n'est pas celui du cœur.

SAMAH

Dédicace

Nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer mes profondes affections et mes immenses gratitude, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère:

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse ma chère maman, **Djamila**.*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect, mon cher papa **Saïd**.*

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation et ma formation. Je vous aime papa, maman et j'implore le tout-puissant pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse afin que je puisse à mon tour vous combler. Votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours.

*A **Djedjiga**, la sœur comme on ne peut trouver nulle part par ailleurs, qui n'a pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que dieu te protège et t'offre la chance et le bonheur.*

*A mes frères **Youcef** et **Azouaou**, qui étaient toujours là pour moi. Pour leurs appuis et leurs encouragements.*

*A mes deux belles sœurs, **Naima** et **Louiza**.*

*A mes adorables nièces **Ania** et **Elicia Talia**, qui savent toujours comment procurer de la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A mon petit cousin **Islam**.*

*A **Abir**, **Nesrine**, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A **Yasmine**, **Kaouther**, veuillez-vous trouvez ici l'expression de mes profonds sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien que vous m'avez apporté, merci pour tous les moments de joie et de folie que vous m'avez partagé.*

A toute personne qui a un sentiment d'amour et de respect envers moi et qui m'a soutenu durant mon cursus.

*A mes chères trinôme **Samah** et **Khadidja** qui ont accepté de faire ce travail ensemble, pour leur soutien moral, durant la réalisation de ce travail.*

DEHLA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A celle qui a veillé pour que j'arrive là où je suis, celle qui m'a encouragé durant toute ma vie et elle m'a donné l'espoir de poursuivre ce chemin jusqu'au bout **MAMAN ZAHIA** j'espère que je saurais à la hauteur de tes espérances ; que dieu te protège pour nous.*

*A ma bougie de vie qui se brule pour éclaircir mon chemin, qui ne m'a rien refusé pour que je réussisse, **mon cher père AHMED** que dieu te bénisse et me donne la force pour que tu sois toujours fier de moi.*

*A mes chères sœurs **HANANE, REKIA, MARIA, NOUR ELHOUDA***

Qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant mes années d'études. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite.

*Mon petit frère adoré **AYOUB OMAR** mon petit ange que j'aime tant.*

*A la mémoire de mon frère **MOHAMED SAID***

J'aurai aimé que tu sois présent pour voir ce que je suis devenue aujourd'hui, tu me manques énormément, que dieu t'accueille dans son vaste paradis.

A toute ma famille

*A mes chères amies : **AMINA, WARDA, MASSILVA, SARA, YASMINE, NESRINE, KAOUTHER***

*A mes trinômes **DEHIA** et **SAMAH** qui ont partagée avec moi tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail.*

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment .

KHADIDJA

TABLE DE MATIERE

Liste desTableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1
Objectifs.....	2

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : Figuier de barbarie

1.Origine et distribution du figuier de barbarie :.....	3
2.Systématique du Figuier de barbarie :.....	3
2.1.Nomenclature :	3
2.2.Description botanique:.....	4
3.Composition chimique:.....	5
3.1.Composition chimique des cladodes (raquettes):.....	5
3.2.Composition chimique des fleurs :	6
3.3.Composition chimique de fruit :	7
3.4.Composition chimique des graines:	8
4..Propriétés thérapeutiques:.....	9
5.Récolte:	10

CHAPITRE II : Les polyphénols

1.Définition.....	11
2.Propriétés physico-chimiques des polyphénols:.....	11
3.Classification des polyphénols.....	12
3.1. Non flavonoïdes:.....	13
3.1.1 Acides phénoliques:	13
3.1.1.1 Dérivés de l'acide hydroxy-benzoïque:.....	13
3.1.1.2 Dérivés de l'acide cinnamique:	13
3.1.2 Stilbènes :	14
3.1.3 Lignines (C ₆ -C ₃) _n :	14
3.1.4 Lignanes:	15
3.1.5 Coumarines:	15

TABLE DE MATIERE

3.2.Flavonoïdes:.....	16
3.2.1.Flavones:	16
3.2.2.Isoflavones:	17
3.2.3.Flavanols:.....	17
3.2.4.Flavonols:.....	18
3.2.5.Flavanones :	18
3.2.6.Anthocyanidines:	19
3.3.Tanins:	19
3.3.1.Tanins hydrolysables:	20
3.3.2.Tanins condensés	20
4.Biosynthèse des composés phénoliques:	21
4.1.Voie de shikimate:.....	21
4.2.Voie d'acétate:	21
5.Pharmacocinétique:	21
5.1.Absorption:	21
5.2.Distribution:.....	22
5.3.Métabolisme:	22
5.4.Elimination:	22
6.Propriétés thérapeutiques:	23
7.Dosage des polyphénols totaux:.....	23
7.1.Dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu:	23
7.1.1.Historique:.....	23
7.1.2.Objectifs:.....	24
7.1.3.Principe:	24

CHAPITRE III : Extraction solide liquide

1.Historique:	25
2.Principe d'extraction solide-liquide:	25
3.Mécanisme d'extraction:.....	25
3.1.Adsorption:	25
3.2.Partage d'ions:	25
3.3.Complexation:	25

TABLE DE MATIERE

3.4.Chélation:.....	26
3.5.Echange d'ions:	26
4.Types d'extraction solide-liquide	26
4.1.Techniques conventionnelles:.....	26
4.1.1.Extraction par l'appareil de Soxhlet:	26
4.2.Techniques nouvelles (non-conventionnelles):	27
4.2.1.Extraction assistée par microondes:.....	27
4.2.2.Extractions par ultrasons:.....	28
4.2.3.Extraction accélérée par solvants:.....	29
5.Facteurs influençant les performances de l'extraction:	29
5.1.Taille des particules:.....	29
5.2.Nature du solvant:.....	29
5.3.Température:.....	30
5.4.Temps d'extraction:	30
5.5.Degré d'agitation:	30
6.Rendement d'extraction:	30

CHAPITRE VI : plans d'expérience

1.Définition des plans d'expériences:.....	31
2.Notions statistique:	31
2.1.Statistique:	31
2.2.Population.....	3
2.3.Echantillon :.....	32
2.4.Caractère / Variable :.....	32
2.5.Modalité	32
2.6.Série statistique :.....	32
3.Notion d'expérience.....	32
4.Principaux avantages des plans d'expériences	32
5.Types de plans d'expérience	33
5.1.Plans factoriels complets	33
5.2.Plans factoriels fractionnaires:.....	33
5.3.Plans non factoriels	33

TABLE DE MATIERE

6. Notion de modélisation mathématique:	33
7. Méthodologie expérimentale.....	34
7.1. Objectifs d'utilisation des plans d'expériences	35
7.1.1. Objectif de criblage :.....	35
7.1.2. Objectif de modélisation :.....	35
partie pratique	
Chapitre I : Matériels et Méthodes	
1. Matériels.....	36
1.1. Matières premières :	36
1.1.1. Récolte:	36
1.2 Réactifs:.....	36
1.3 Appareillage et équipements:	38
1.4 Verrerie et autres:	39
2. Méthode:	39
2.1. Enquête ethnobotanique:	39
2.2. Préparation des matières premières :	40
2.2.1. Préparation de la poudre des cladodes :	40
2.2.2. Préparation de la poudre des fleurs:	40
2.2.3. Préparation de la poudre des graines et des écorces:	41
2.3. Etude quantitative:	41
2.3.1. Plans d'expérience:	41
2.3.1.1. Choix des facteurs:	42
2.3.1.2. Choix de la réponse	42
2.3.1.3. Construction du plan	42
2.3.1.4. Construction de la matrice:	43
2.3.2. Extraction	43
2.3.2.1. Préparation des solutions d'extraction :	43
2.3.3. Etalonnage.....	44
2.3.3.1 Préparation de la solution mère étalon (Sm):	44
2.3.3.2 Préparation d'une série de dilutions à partir de Sm:	44
2.3.4. Méthode de dosage:	45
2.3.4.1. Préparation des réactifs:	45

TABLE DE MATIERE

2.3.4.2.Préparation du blanc:.....	45
2.3.4.3.Dosage des polyphénols totaux par réactif de folin ciocalteu.....	45
2.4.Etude qualitative:.....	46
2.4.1.Conditions chromatographiques:	47
2.4.2.Préparation des solutions:	47
2.4.2.1.Solutions standards:.....	47
2.4.2.2.Solutions échantillons:	48
ChapitreII:Résultats et Discussion	
1.Résultats	49
1.1.Plan d'expériences:.....	49
1.1.1.Plan factoriel complet:	49
1.1.1.1.Raquettes:	49
1.1.1.2.Fleurs:.....	50
1.1.1.3.Ecorces:	51
1.1.1.4.Graines :	52
1.1.2.Validation du modèle:.....	52
1.1.3.Facteurs influençant :	55
1.1.4.Analyse des variances :.....	57
1.1.4.1.Evaluation du plan :.....	57
1.1.5.Estimation des coefficients :	59
1.2.Optimisation d'extraction:.....	60
1.2.1.Analyse quantitative:	60
1.2.1.1.Etalonnage:.....	60
1.2.2.Etude qualitative:	61
2.Discussion	63
2.1.Plan d'expérience	63
2.1.1.Choix du plan d'expérience	63
2.1.2.Validation du plan d'expérience	63
2.2.Analyse quantitative	63
2.2.1.Courbe d'étalonnage	63
2.2.2.Dosage des polyphénols totaux.....	64
2.3.Analyse qualitative	64

TABLE DE MATIERE

Conclusion.....	65
ANNEXES.....	66

Liste des abréviations

AvJ.-C:	Avant Jurassique	Ng:	Nanogramme
ha:	Hectare.	PEX:	Plans d'expérience
Cm :	Centimètre	FB:	Formule brute
g:	Gramme	M ^r :	Masse molaire
vit:	Vitamine	N° CAS:	Numéro de CAS
% :	Pourcent	P:	Masse volumique
Mg:	Milligramme	UV:	Ultraviolet
pH:	Potentiel d'hydrogène	HPLC:	Chromatographie phase liquide haute performance
Ca:	Calcium	mol ou M:	Mole
Mg:	Magnésium	ml:	Millilitre
Na:	Sodium	Sm:	Solution mère
K:	Potassium	m/v:	Masse / Volume
P:	Phosphore	µl:	Microlitre
Fe:	Fer	Min:	Minute
Mn:	Manganèse	nm:	Nanomètre
Cu:	Cuivre	HTA:	Hypertension artérielle
Zn:	Zinc	MHz:	Mégahertz
Mo:	Molybdène	GHz:	Gigahertz
C:	Carbone	°C:	Degré Celsius
OH:	Hydroxyde	PM:	Phase Mobile
R:	Radical	MPa:	Mégapascal
ß:	Beta		

Liste des Tableaux

Tableau I: Principaux composants des cladodes du figuier de barbarie	7
Tableau II: Composition chimique des raquettes d'Opuntia (PNTTA, 2009).	7
Tableau III: Composition en poly phénols des cladodes de l'Opuntia ficus-indica	7
Tableau IV: Composition moyenne (pourcentage en poids par rapport à la masse sèche) de la fleur du figuier de barbarie	8
Tableau V: Composition de la fleur en sucre neutres et acides (pourcentage en poids par rapport à la masse sèche)	8
Tableau VI: Distribution et contenu des phénols et des flavonoïdes dans les différentes parties d'O. ficus-indica	8
Tableau VII: Composition brute du fruit d'Opuntia (g /g de matière sèche).	9
Tableau VIII: Composition des fibres du fruit d'Opuntia (% des fibres totales).	9
Tableau IX: Teneur en vitamines et en antioxydants de fruit de figuier de barbarie(mg/100g).	9
Tableau X: Composition minérale du fruit du figuier de barbarie (mg/100 g de matière sèche),.....	10
Tableau XI: Composition chimique des graines du figuier de barbarie	10
Tableau XII: Composition en acides gras de l'huile des graines d'Opuntia	11
Tableau XIII: Exemples d'acides phénoliques dérivants d'acide hydroxy-benzoïque	14
Tableau XIV: Structures chimiques des acides hydroxy-cinnamiques	14
Tableau XV: Structures chimiques de quelques Stilbènes.....	15
Tableau XVI: Principaux types de coumarines	16
Tableau XVII: Récapitulatif des conditions de récoltes	36
Tableau XVIII: Réactifs utilisés dans le présent travail.	37
Tableau XIX: Appareils et équipements utilisés.	38
Tableau XX: Matériels utilisés.....	39
Tableau XXI: Protocoles de dosage effectués.	43
Tableau XXII: Facteurs influençant la quantité de polyphénols.	45
Tableau XXIII: Matrice des effets en variables codés	46
Tableau XXIV: Matrice des effets en variables réelles	46

Liste des Tableaux

Tableau XXV: Conditions chromatographiques.....	47
Tableau XXVI: Résultats obtenus pour les raquettes	50
Tableau XXVII: Résultats obtenus pour les fleurs	51
Tableau XXVIII: Résultats obtenus pour l'écorce	52
Tableau XXIX: Résultats obtenus pour les graines	53
Tableau XXX: Facteurs influençant et non influençant sur l'extraction des polyphénols présents dans les différents organes du figuier de barbarie.....	56
Tableaux XXXI: Analyse des variances des différentes organes	58
Tableau XXXII: Estimation des coefficients des différents organes	60
Tableau XXXIII: Absorbances des solutions étalons.....	61

Liste des Figures

Figure 1: a- Plante figuier de barbarie, b- Cladodes, c- Fleurs, d- Fruit.	5
Figure 2: Propriétés thérapeutiques du cactus.	6
Figure 3: Structure de noyau phénol	12
Figure 4: Formes mésomères des phénols	12
Figure 5: Classification générale des polyphénols	13
Figure 6: Principaux constituants de lignine	15
Figure 7: Exemples des structures chimiques des Lignanes	16
Figure 8: Squelette de base des flavonoïdes	17
Figure 9: Structure des flavones	18
Figure 10: Structure des Isoflavones	18
Figure 11: Structure des Flavanols	19
Figure 12: Structure des flavonols	19
Figure 13: Structure des Flavanones	20
Figure 14: Structure des anthocyanidines	20
Figure 15: Structure des tanins hydrolysables	21
Figure 16: Structure chimique d'un tanin condensé (proanthocyanidines)	22
Figure 17: Principaux effets thérapeutiques des polyphénols	24
Figure 18: Dosage des polyphénols par folin ciocalteu.....	25
Figure 19: Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet	27
Figure 20: Spectre électromagnétique	27
Figure 21: Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore	28
Figure 22 : Différentes étapes d'extraction par solvant accélérée.....	29
Figure 23: Méthodologie expérimentale	35
Figure 24: Etapes de préparation de poudre de cladodes	40
Figure 25: Préparation de poudre des fleurs.....	40
Figure 26: Préparation de poudre des écorces et des graines	41
Figure 27: Solutions étalon.....	42

Liste des Figures

Figure 28: Solutions étalons dosés par le réactif de Folin ciocalteu	43
Figure 29: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.....	54
Figure 30: Courbe linéarité de la méthode pour les raquettes	54
Figure 31: Courbe linéarité de la méthode pour les fleurs	54
Figure 32: Courbe linéarité de la méthode pour les écorces	55
Figure 33: Courbe linéarité de la méthode pour les graines	55
Figure 34: Courbe d'étalonnage pour la série	60
Figure 35: Chromatogramme des standards	60
Figure 36: Chromatogramme des raquettes.....	61
Figure 37: Chromatogramme des écorces	61

Introduction

Opuntia ficus-indica est un cactus originaire du Mexique introduit en Afrique au 16^{ième} siècle par des espagnols. Ses extraits sont riches en principes actifs notamment les polyphénols qui recèlent de multiples propriétés thérapeutiques [1].

Les polyphénols sont des composés organiques complexes, présentés sous différentes classes à savoir : les acides phénoliques, coumarine, flavonoïdes, lignine, lignane, stilbène et tannins quant à leur extraction, en dépit de toutes les méthodes utilisées le rendement reste à désirer [2].

Dans ce contexte l'objet ultime de cette étude est d'opter pour un système d'extraction plus simple, fiable et moins coûteux, permettant d'obtenir un rendement satisfaisant en polyphénols, contenus dans les différents organes du figuier de barbarie à savoir : les raquettes, les grains, les écorces et les fleurs, cet objectif réclame l'optimisation de la méthode qui peut se faire au moyen d'un plan d'expériences factoriel complet afin de palier au faible rendement de cette extraction.

Ce manuscrit est composé de deux parties, une partie bibliographique et une partie pratique.

La partie bibliographique est subdivisée en quatre chapitres :

- Le premier chapitre traite les connaissances de la littérature sur le figuier de barbarie.
- Le deuxième est consacré aux connaissances chimiques et pharmacologiques des composés phénoliques.
- Le troisième présente les méthodes d'extraction.
- Le quatrième chapitre est dédié aux plans d'expérience.

La partie pratique comprend deux sections dont la première décrit le matériel et l'ensemble des méthodes utilisés dans cette étude. Quant à la deuxième section est consacrée aux résultats obtenus et leur interprétation.

Une conclusion générale suivie des références bibliographiques sont situées en fin de manuscrit.

OBJECTIFS

Notre travail consiste à optimiser une méthode d'extraction solide-liquide, des polyphénols contenus dans les différentes parties de figuier de barbarie espèce *Opuntia ficus-indica*, et ce par le biais d'un plan d'expérience factoriel complet.

Dans ce travail, plusieurs compétences ont été acquises. On a pu :

- Faire connaissance et maîtriser la verrerie de laboratoire tout en respectant les bonnes pratiques de laboratoire ;
- Faire connaissance des appareils de mesure tel que le spectrophotomètre ;
- Analyser les données expérimentales obtenu avec le logiciel JMP®16 pro ;
- Maîtriser le protocole d'extraction des polyphénols et leurs dosages par la méthode Folin-Ciocalteu.
- Identifier les acides phénoliques contenus dans les différents extraits par chromatographie liquide haute performance.

PARTIE
THEORIQUE

Chapitre I
Figuier de barbarie

A l'heure actuelle, le figuier de barbarie longtemps délaissé, présente le sujet de plusieurs recherches scientifiques dans le monde entier, différents avantages attribués aux effets des extraits et des composés issus du cactus ont été suggérés par les utilisations de la médecine traditionnelle.

1 Origine et distribution du figuier de barbarie :

Le figuier de barbarie est originaire des régions arides et semi arides du Mexique.

L'utilisation alimentaire de l'espèce date de l'époque préhistorique grâce à la découverte de graines fossiles datant du septième millénaire av. J.-C [3].

Le figuier de Barbarie fut introduit en Afrique du Nord (Algérie, Tunisie, Maroc) vers le 16ème siècle. Sa culture s'est diffusée rapidement dans le bassin de la Méditerranée. Elle s'est également répandue dans l'hémisphère sud, notamment en Afrique du Sud, à Madagascar, à la Réunion, à l'île Maurice, en Inde, à Ceylan et en Australie [4].

En Algérie, les plantations du figuier de barbarie sont réparties dans les hauts plateaux, à Batna, Biskra et surtout en Kabylie.

Sa superficie a évolué de façon remarquable au cours de ces deux dernières décennies à cause de la sécheresse, elle est passée de 50 000 ha en 1998 à plus de 120 000 ha en 2009 enregistrant une progression annuelle de 2500 hectares [3].

2 Systématique du Figuier de barbarie :

2.1 La nomenclature :

Nom vernaculaire : Le figuier de barbarie est connu sous plusieurs noms vernaculaires dans le monde:

- **En Mexique :** Nopal, vient du mot nochtli en nahuatl, langue classique des Aztèques.
- **En anglais:** prickly pear, indian-fig, barbary-fig, tuna-cactus.
- **En français :** nopal, figuier d'inde, figuier de barbarie
- **En arabe:** التين الشوكي, الهندي, الكرموس [1]

Selon la classification de Carl Von Linné la position systématique de figuier de barbarie est:

Règne:	Plantae
Sous règne:	Tracheobionta
Embranchement:	Phanérogame
Sous Embranchement:	Magnoliophyta
Classe:	Magnoliopsida
Sous classe:	Caryophyllida
Ordre:	Opuntiales
Famille:	Cactaceae
Sous-famille:	Opuntioideae
Tribu :	Opuntieae
Genre:	Opuntia
Sous-genre:	Platyopuntia
Espèce:	<i>Opuntia ficus indica</i> (L)

2.2 La description botanique:

Selon la classification botanique, le cactus ou cactacée est un végétal phanérogame appartenant au angiospermes, dicotylédones. Ce sont des arbustes ou des arbres vivaces xérophytes à tiges charnues, caliciflores. Les fleurs sont grandes et rotacées [1].

Le nopal est une plante arborescente, de 3 à 5 mètres de haut qui est capable d'emmagasinier une grande quantité d'eau [5].

Elle a la particularité de fixer le dioxyde de carbone et de libérer l'oxygène pendant la nuit et de fermer ses stomates pendant le jour [6].

L'appareil racinaire : les racines sont superficielles, très étendues, charnues horizontalement. La distribution racinaire peut dépendre du type de sol et de la gestion culturale [6]. Elles sont caractérisées par la grande capacité d'absorption d'eau qui augmente parallèlement avec l'élévation des températures du sol [8].

Les cladodes : sont des tiges plates en raquette vertes ovales, de 30 à 40 cm de long, 15 à 25 cm de large, 1,5 à 3 cm d'épaisseur, à petits aréoles et feuilles qui se transforment en épines de plusieurs millimètres de long, blanches, robustes, fines et petites[5].

Ils assurent la fonction chlorophyllienne à la place des feuilles, et sont recouverts d'une cuticule (la cutine) qui limite la transpiration et protège contre les prédateurs [1].

Les fleurs : Les fleurs jaunes sont hermaphrodites, apparaissant sur les marges des branches, du calice vert, de l'ovaire infère uniloculaire, de nombreuses étamines et un pistil recouvert de stigmate [5]. La floraison aura lieu au printemps et qui dure de 3 à 5 semaines.

Le fruit : la fructification a lieu en juillet-aout Le fruit est baie ovale charnu, avec une écorce épineuse verte à jaune orangé à maturité, et la chair est jaune ou rouge, parsemée de plusieurs graines.

Le poids de la baie varie de 67 g à 216 g [1].



Figure 01 : a- la plante figuier de barbarie, b- les cladodes, c- les fleurs, d- le fruit. [1]

3.Composition chimique :

Les différents organes de figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica* : Cladode, fruit, fleurs comportent une importante teneur en eau, en oligo-éléments comme le magnésium, phosphore, calcium, cuivre et le potassium, ils représentent également une excellente source en protéines dont les acides aminés essentiels notamment la proline et la sérine.

Leurs richesses en fibres végétaux préviennent l'organisme de constipation et régularisent le transit intestinal. Ils sont également une source naturelle en vitamines particulièrement vitamine A, B1, B2, B3 et C [1].

Le figuier de barbarie présente une forte teneur en composés phénoliques associés à la prévention des métastases des cancers que ce soit au niveau des cladodes qu'au niveau des fruits [9].

3.1 Composition chimique des cladodes (raquettes) :

La composition chimique des cladodes est influencée par les facteurs pédologiques, les conditions climatiques et l'âge de la plante, ce qui rend les teneurs en éléments nutritifs varient en fonction des variétés et des espèces [3].

Ils sont riches en mucilage dont la fraction majoritaire est constituée d'un polysaccharide neutre et les analyses de sucres montrent une prédominance de D-galactose, D-xylose, L-arabinose et d'acides D-galacturonique [1] [10].

La composition des cladodes est illustrée dans les tableaux ci-dessous (1.2.3) :

Tableau I: Principaux composants des cladodes du figuier de barbarie [11].

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

Tableau II: Composition chimique des raquettes d'*Opuntia*(PNTTA, 2009).

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

Tableau III: Composition en poly phénols des cladodes de l'*Opuntia ficus-indica* [12].

Poly phénols	Matière sèche (mg/100mg)
Acide gallique	0.64-2.37
Acide Coumarique	14.08-16.18
3,4-dihydroxybenzoïque	0.06-5.02
4-hydroxybenzoïque	0.5-4.72
Acide ferulique	0.56-34.77
Isoquercétine	2.29-39.67
Isorhamnétin-3-O-glucoside	4.59-32.21
Nicotiflorine	2.89-146.5
Rutine	2.36-26.17
Narcissine	14.69-137.1

3.2 Composition chimique des fleurs :

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

La teneur importante en flavonoïdes a fait leurs propriétés antispasmodiques légères de l'intestin, ainsi que diurétique, les capsules des corolles des fleurs séchées sont utilisées comme un remède du dysfonctionnement de la prostate, une amélioration de malaises associés à l'hypertrophie bénigne de la prostate [4].

La composition est résumée dans les tableaux ci-dessous (4.5.6) :

Tableau IV: Composition moyenne (pourcentage en poids par rapport à la masse sèche) de la fleur du figuier de barbarie [13].

Composants	Pourcentage
Cires	9-11
Minéraux	7-8
Lignine Klason	2-3
Cellulose	27
Protéines	8-10
Autres polysaccharides	40-45

Tableau V: Composition de la fleur en sucres neutres et acides (pourcentage en poids par rapport à la masse sèche) [13]

Constituants :	Pourcentage :
Acide uronique (AU)	35.6
Rhamnose (Rha)	3.3
Arabinose (Ara)	9.3
Xylose (Xyl)	4.5
Mannose (Man)	1.6
Galactose (Gal)	8.4
Glucose (Glu)	29.3

Tableau VI: Distribution et contenu des phénols et des flavonoïdes dans les différentes parties d'O. ficus-indica [13].

Composant principale	Contenu en mg/100g
Acide gallique	1630-4900
Quercetin 3-O-rutinoside	709
4 Kaempferol 3-O-Rutinoside	400
5 Quercetin 3-O-Glucoside	447
6 Isorhamnetin 3-O-Robinoside	4269
7 Isorhamnetin 3-O-Robinoside	979
8 Isorhamnetin 3-O-Robinoside	724
9 Kaempferol 3-O-Arabinoside	324

3.3 Composition chimique de fruit :

La figue de barbarie se caractérise par rapport aux autres fruits par un pH relativement élevé (pH $\approx$ 5.6). Il contient en très grande majorité de fibres insolubles (cellulose, hémicellulose, lignine), formant en particulier la trame de graines présentes dans la pulpe, tandis que la peau contient essentiellement du glucose et elle est riche en cellulose.

Le mucilage est composé d'arabinose, de galactose, de rhamnose, de xylose et d'acide galacturonique à des teneurs variables [1].

La composition est illustrée dans les tableaux ci-dessous (7.8.9.10) :

Tableau VII: Composition brute du fruit d'Opuntia (g /g de matière sèche) [1].

Constituants	Pulpe	Graine	Ecorce
Amidon	4.55	5.35	7.12
Protéine	5.13	11.8	8.3
Lipide	0.97	6.77	2.43
Cendre	8.5	5.9	12.1
Fibre	20.5	54.2	40.8
Hydrate de carbone	58.3	1.59	27.6

Tableau VIII: Composition des fibres du fruit d'Opuntia (% des fibres totales)[1].

Fibres en %	Pulpe	Graine	Ecorce
Hémicellulose	15.5	9.95	20.8
Cellulose	14.2	83.2	71.4
Pectines	70.3	6.69	7.71
Lignines	0.01	0.19	0.06

Tableau IX:Teneur en vitamines et en antioxydants de fruit de figuier de barbarie(mg/100g)[14].

Teneur en vitamines et en antioxydants	Par 100g
Vitamine C	12-81mg
Vitamine E	111-115 μ g
Vitamine K1	53 mg

Caroténoïdes totaux	0.29-2.37g
□ Bêta-carotène	1,2 -3,0µg
Flavonoïdes :	
□ Dérivé de Kaempferol	0,11-0,38g
□ Dérivé de Quercetin	0.98-9g
□ Dérivé d'isorhamnétine	0,19-2,41 g

Tableau X:Composition minérale du fruit du figuier de barbarie (mg/100 g de matière sèche)[14].

	Pulpe	Graine	Ecorce
Ca	0.163	258	2090
Mg	76.1	208	322
Na	7.77	<0.83	<0.85
K	559	275	3430
P	0.03	110	0.064
Fe	16.5	12.1	8.31
Cu	<0.78	<0.83	<0.85
Zn	1.55	4.16	1.7
Mn	6.99	<0.83	72.9
Mo	<0.13	<0.33	<0.34

3.4 Composition chimique des graines :

Les graines sont riches en huile brute « polyinsaturée » avec un taux important en acides gras essentiels notamment l'acide oléique, l'acide linoléique et vit E.

La composition est illustrée dans les tableaux ci-dessous (11.12) :

Tableau XI: Composition chimique des graines du figuier de barbarie[6].

Constituants	Pourcentage %
Eau	5-6
Huile	7-8.5
Minéraux cendres	1.3
Lignine	18
Protéines (N*6.25)	11-12
Cellulose	30
Autres polysaccharides	27
Sucres neutres et acides *	
Acides uroniques	1.1
Rhamnose	0.6
Arabinose	3.1
Xylose	23.8
Mannose	1.0
Galactose	1.0
Glucose	35.6

*en poids par rapport à la matière sèche.

Tableau XII:Composition en acides gras de l'huile des graines d'Opuntia

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

4. Propriétés thérapeutiques:

Le figuier de barbarie est traditionnellement utilisé, dans plusieurs pays, comme médicament naturel pour le traitement de nombreuses maladies. Il semble être une excellente source de substances phytochimiques d'importance thérapeutique.

Tout est utile dans le figuier de barbarie, rien ne se jette puisque ses composants bioactifs peuvent être extraits à partir de différentes parties : les fleurs, les fruits, les cladodes, les racines, les graines qui représentent la partie la plus importante du figuier de barbarie.

La Figure ci-dessous résume les propriétés thérapeutiques les plus pertinentes attribuées aux différents organes d'*Opuntia ficus indica*.

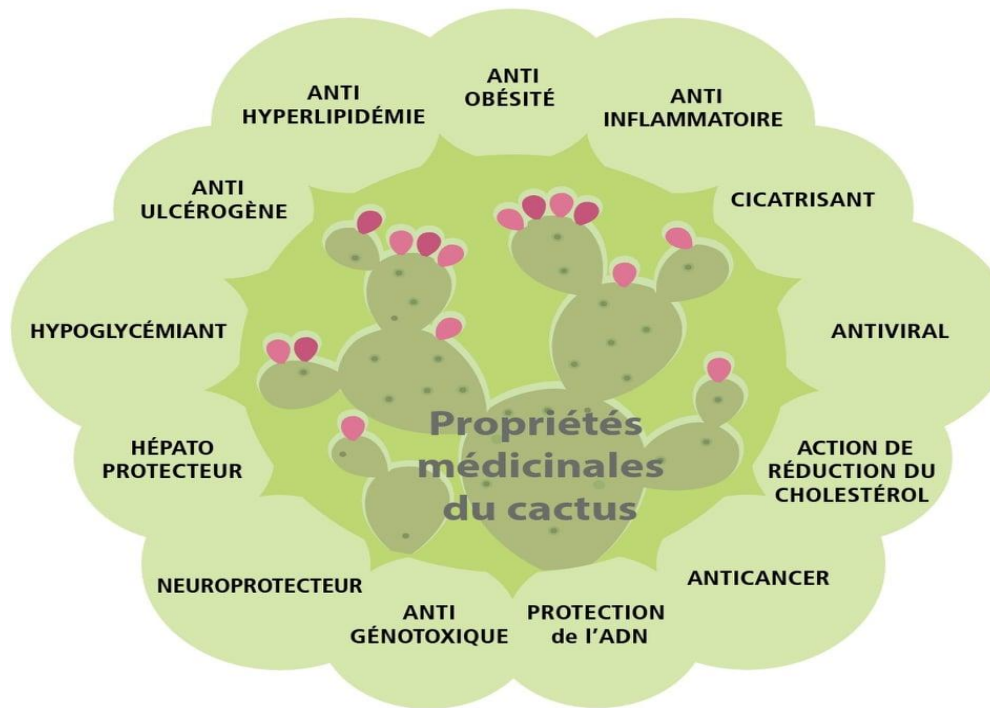


Figure 02 : Propriétés thérapeutiques du cactus [15]

5. Récolte:

La récolte des fruits se déroule la fin du mois juillet jusqu'au début mois septembre, elle se fait manuellement, en faisant attentivement une rotation du fruit ce qui permet leur séparation de cladode à l'aide d'un roseau fondue à l'extrémité [13] [1].

Les figues de barbarie sont pratiquement difficiles à récolter à cause de la présence d'épines et de glochides qui peuvent endommager la peau et pénétrer dans les yeux et les voies respiratoires. Les fruits sont donc récoltés le matin lorsque l'humidité est suffisamment élevée pour empêcher les glochides de se déloger et de flotter dans l'air [7].

Chapitre II

Les polyphénols

Depuis une quinzaine d'années, les chercheurs et l'industrie s'intéressent de plus en plus à une catégorie d'antioxydants, les polyphénols. La reconnaissance des propriétés antioxydantes de ces composés, leurs abondances dans l'alimentation et leurs rôles probables dans la prévention des maladies, associées à un stress oxydant, sont les principales raisons de cet engouement.

1 Définition:

Les polyphénols, aussi appelés composés phénoliques, sont des molécules largement répandues dans le règne végétal et qui appartiennent à leurs métabolites secondaires.

Il existe dans la plante toute entière, de la racine au fruit, contrairement aux métabolites primaires, leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie de la plante, mais ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement.

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés. L'élément structural fondamental, qui les caractérise, est la présence d'au moins un noyau benzoïque à 6 carbones (**Fig 3**), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. [16].

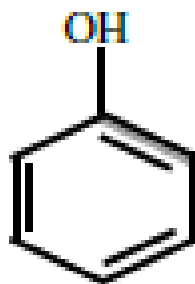


Figure 3 : Structure de noyau phénol [16].

2 Propriétés physico-chimiques des polyphénols :

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques, en particulier des substituants, à effet mésomère attracteur d'électrons (-M) et à effet mésomère donneur (+M). La conjugaison d'une des deux paires libres de l'atome O avec le cycle, traduit l'effet (+M) du groupe OH. Ce phénomène augmente la délocalisation électronique, et génère une charge négative partielle sur les atomes C2, C4, C6. L'effet (+M) peut être représenté par quatre formes mésomères [17].

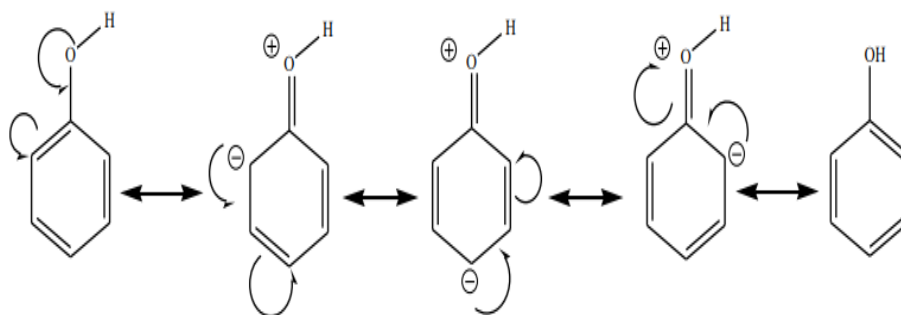


Figure 4 : Formes mésomères des phénols

➤ **La nucléophilie :**

La nucléophilie des composés phénoliques est déterminée par l'atome d'oxygène et les atomes de carbones ortho et para du groupe OH (suit l'effet (+M)). Elle est à l'origine des réactions de substitution électrophile aromatique (alkylation, acylation, etc.) [18].

➤ **La polarisabilité :**

La polarisabilité des phénols leur permet de développer de fortes interactions moléculaires de dispersion (composante attractive des interactions de Van Der Waals), avec autre composés polarisables. [18]

➤ **La solubilité :**

Ils sont solubles dans la majorité des solvants organiques polaires.

➤ **Stabilité des polyphénols :**

Lumière, pH, température, nature du solvant, la présence d'enzyme, d'ion métallique et d'oxydant, ont été décrits comme des facteurs influençant la stabilité des flavonoïdes. [17]

➤ **L'acidité :**

Les groupements OH en position para et ortho des noyaux phénoliques de polyphénols présentent un caractère acide renforcé. [19]

➤ **Propriété antioxydante :**

Les composés phénoliques sont des puissants antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène [19].

3 La classification des polyphénols :

Dans la figure 5, ci-dessous, une classification générale des composés phénoliques a été établie :

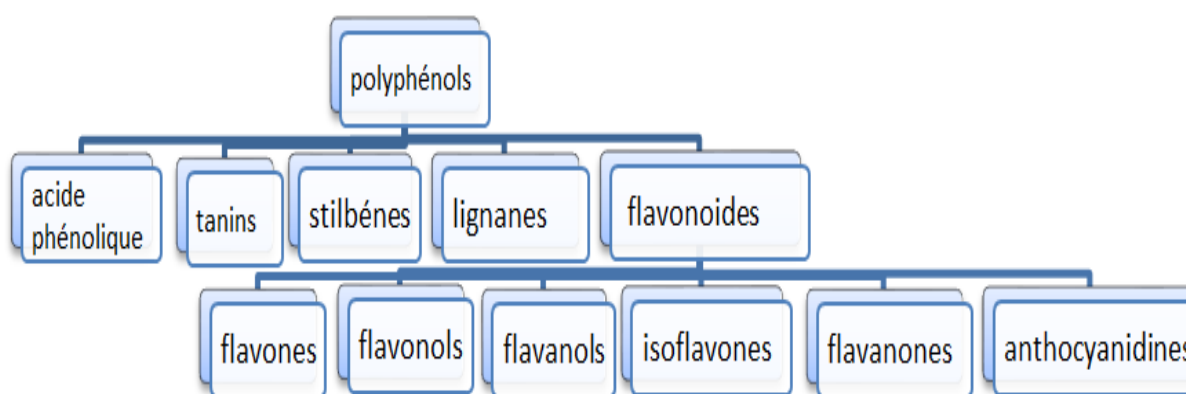


Figure 5 : Classification générale des polyphénols.

3.1 Non flavonoïdes :

Dans ce groupe, on distingue : les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines.

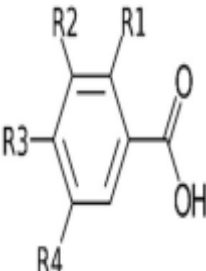
3.1.1 Acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont des composés organiques, de structure plus simple C₆-C₃, possédant une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont dérivés de l'acide hydroxy-benzoïque et l'acide hydroxy-cinnamique [19].

3.1.1.1 Les dérivés de l'acide hydroxy-benzoïque :

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque, et ont une formule basique du type C₆-C₁. Ils existent fréquemment sous la forme libre que combinés, à l'état d'ester ou d'hétérosides. Ils sont trouvés surtout chez les gymnospermes et les angiospermes [19].

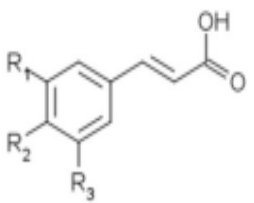
Tableau XIII: Exemples d'acides phénoliques dérivants d'acide hydroxy-benzoïque

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide para-benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vinylique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique

3.1.1.2 Les dérivés de l'acide cinnamique:

Les dérivés de l'acide cinnamique ont une structure de base C₆-C₃, et sont largement distribués, rarement libre, souvent estérifiés et peuvent être acidifiées ou combinés avec des sucres ou des polyols. [16]

Tableau XIV: Structures chimiques des acides hydroxy-cinnamiques

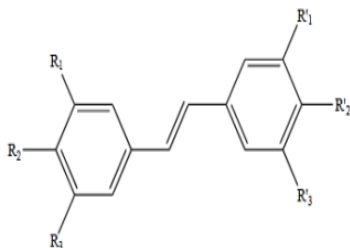
Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	H	Acide para-comarique
	OH	OH	H	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	Acide sinapique

3.1.2 Les Stilbènes :

Ils ont une structure $C_6-C_2-C_6$, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes, en réponse à l'attaque par les micro-organismes pathogènes, bactériens et viraux.

Ils sont constitués de deux cycles aromatiques, liés entre eux par une double liaison formant un système conjugué. Ils existent dans nombreuses familles de plantes supérieures. [19]

Tableau XV: Structures chimiques de quelques Stilbènes

Structure	R1	R2	R3	R'1	R'2	R'3	Dénomination
	OH	H	OH	H	OH	H	Resvératrol
	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OH	H	Ptérostilbène
	Glucose	H	OH	H	OH	H	Picéide

3.1.3 Les lignines (C_6-C_3)_n :

La lignine est un grand polymère ramifié composé de trois alcools phénoliques. Ils sont situés dans la paroi cellulaire et sont abondants, mais sa structure n'est pas claire. [20]

Les lignines sont insolubles dans l'eau et la plupart des solvants organiques, ce qui les rend difficiles à extraire.

Les monomères basiques peuvent être assemblés de diverses manières pour former des structures tridimensionnelles, hautement ramifiées. [19]

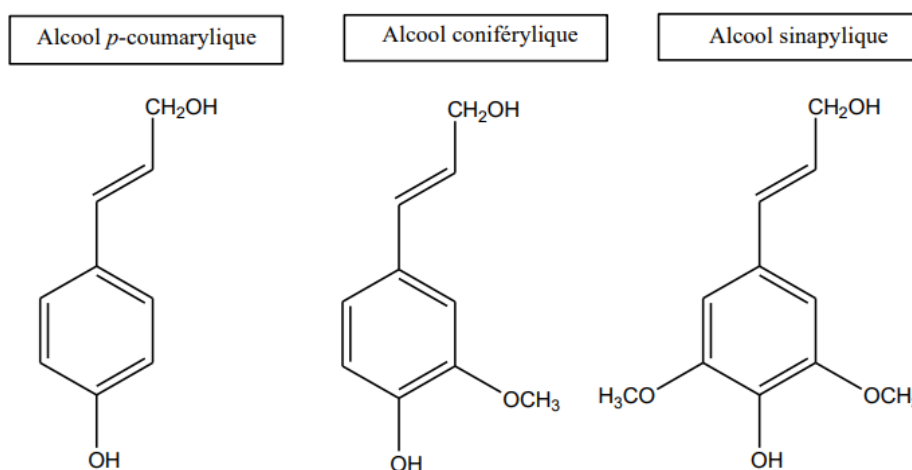


Figure 6 : Principaux constituants de lignine

3.1.4 Les Lignanes:

Les Lignanes sont formés par la condensation structurale de deux unités phénoliques, de types monolignol. Ils sont apparentés aux lignines, ils sont largement distribués dans les plantes. Ce sont des composés phénoliques, biologiquement actifs, non nutritifs, non caloriques. [19] [21]

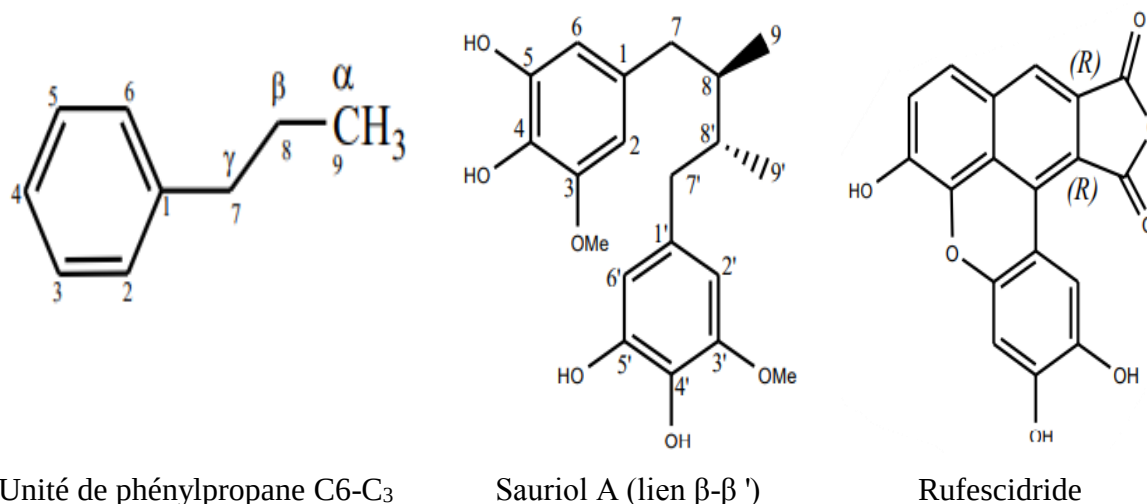


Figure 7 :Exemples des structures chimiques des Lignanes

3.1.5 Les coumarines :

Les coumarines sont également un dérivé C₆-C₃, un hétérocycle contenant de l'oxygène, dont la structure de base est Benzo-2-pyrone. Ce sont des composés phénoliques cyclisés, dont la plupart sont dérivés des acides t-cinnamique et p-coumarique. Cependant, leurs voies de biosynthèse peuvent varier d'une espèce à l'autre. Ils existent dans la nature à l'état libre ou liés aux sucres. [19] [21]

Tableau XVI:Principaux types de coumarines

Structure	R6	R7	R8	Dénomination
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH ₃	OH	H	Scopolétole
	OCH ₃	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

3.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent la plus importante catégorie des composés polyphénoliques naturels, qui sont largement répandus dans les plantes vasculaires, ils interviennent dans la pigmentation des fleurs, fruits et parfois les feuilles et la défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les bactéries, on les trouve dissous dans les vacuoles des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituant de chromoplastes.[28] [16]

Par définition, les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base de quinze atomes de carbone, constituant de deux noyaux aromatiques **A** et **B** et un hétérocycle central de type pyrane **C** formant une structure **C6-C3**.

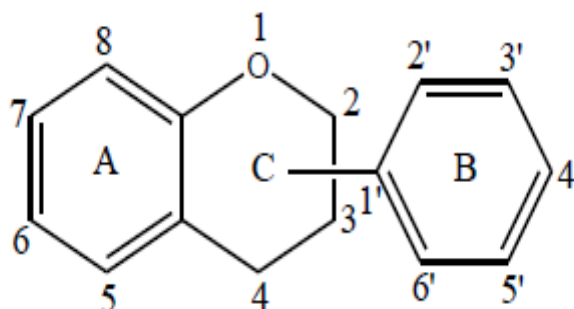


Figure 8 : squelette de base des flavonoïdes [19].

Les flavonoïdes sont subdivisés en sous-classes, selon la structure de l'hétérocycle C. Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés, selon les substitutions des cycles aromatiques. La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Crozier *et al.* 2009).

3.2.1 Les flavones :

Les flavones présentent une double liaison en position 2-3, et le noyau aromatique B est fixé en position 2, ils sont présents sous forme de 7-O-glycosides.

Les flavones sont principalement présentes sous forme de glycosides de lutéoline et d'apigénine (figure 9).

De manière générale les flavones sont moins répandues dans les fruits et légumes que les flavonols. [29]

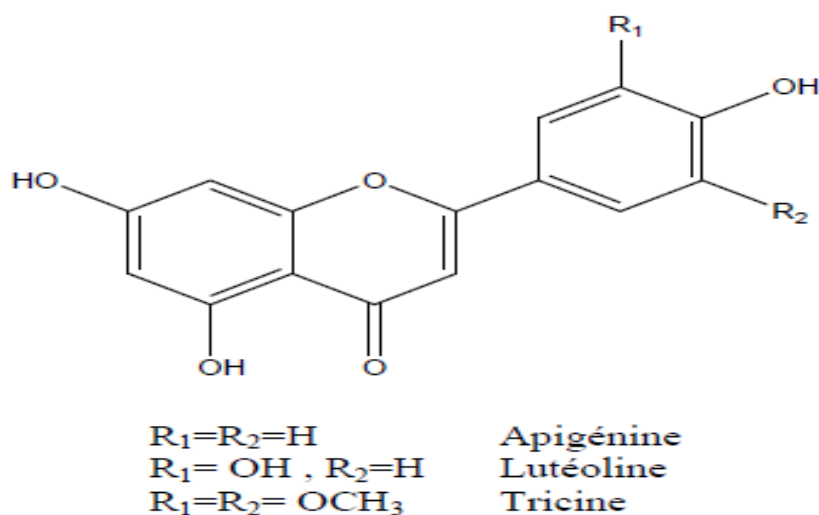


Figure 9 : structure des flavones [19].

3.2.2 Les Isoflavones :

Les Isoflavones se différencient des flavones par la fixation du noyau benzénique B au carbone 3 de l'hétérocycle, elles présentent de fortes similitudes avec les œstrogènes.

En effet, la présence de groupements hydroxyles en C7 et C4' leur donne une structure similaire au 17- β -œstradiol, leur conférant, ainsi, des propriétés pseudo-hormonales dont celle de se lier aux récepteurs, aux œstrogènes. Ainsi, elles sont nommées phyto-œstrogène [29].

Isoflavone

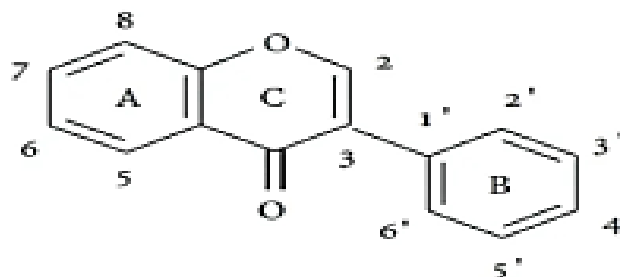


Figure 10 : Structure des Isoflavones. [30].

3.2.3 Les Flavanols :

Les Flavanols existent sous forme de monomères également appelés catéchines, ainsi que sous forme de polymères, les proanthocyanidines.

Les Flavanols présentent un hétérocycle C saturé, auquel s'ajoute une fonction hydroxyle en C3.

La présence de deux centres chiraux en C2 et C3 donne 4 isomères potentiels pour chaque niveau d'hydroxylation du cycle B. Dans les végétaux, les monomères principaux sont la (+) - catéchine et son isomère l'(-)-épicatéchine (figure 11) [29].

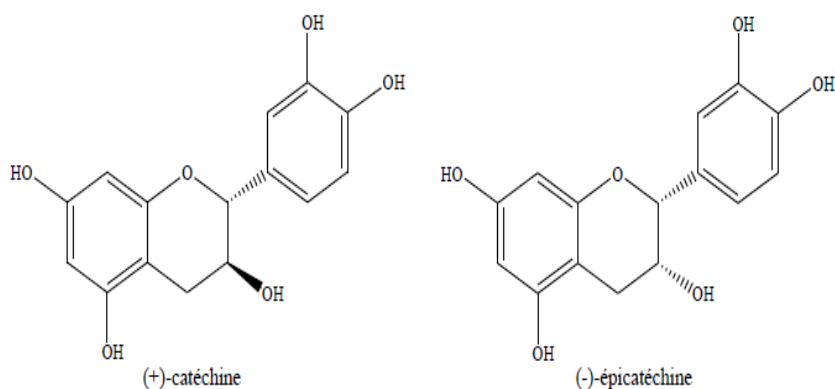


Figure 11 : Structure des Flavanols[19].

3.2.4 Les flavonols :

Les flavonols correspondent aux dérivés hydroxylés des flavones, les composés principaux sont le Kaempferol, la quercétine, l'isorhamnétine (**figure 12**) et la myricétine. Ils sont le plus souvent présents sous forme de glycosides avec une molécule de glucose ou de rhamnose, ce sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal à l'exception des algues et des champignons. [29][28].

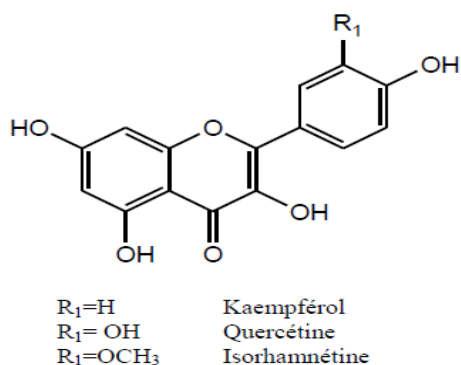


Figure 12 : Structure des flavonols [19]

3.2.5 Les Flavanones :

Les Flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3, et par la présence d'un centre de chiralité en C2, le plus souvent glycosilées par un disaccharide en C7, on distingue deux sous-familles : les rutinosides et les néohespéridosides (**figure 13**) [29] [16].

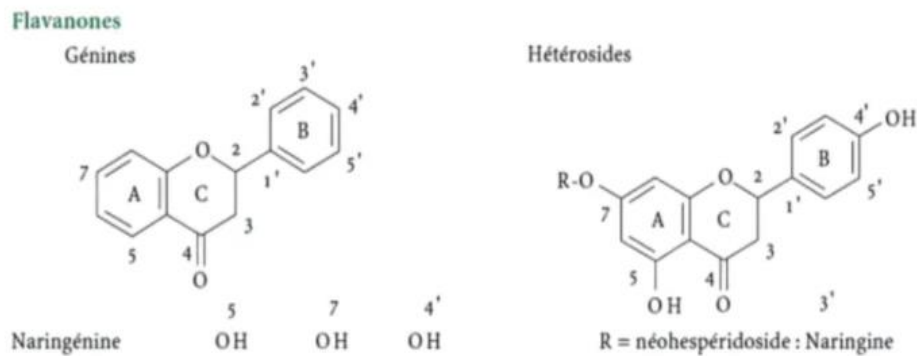


Figure 13: Structure des Flavanones [30].

3.2.6 Anthocyanidines:

Ce sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin, les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (**figure 14**) [16].

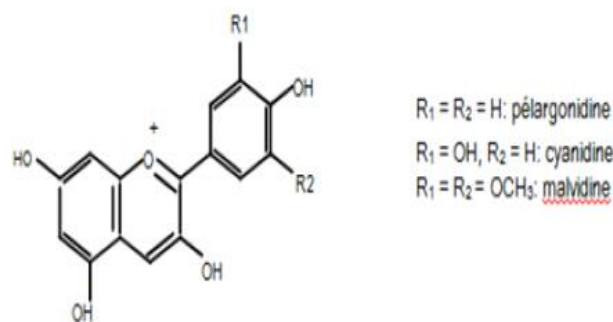


Figure 14: Structure des anthocyanidines [16]

3.3 Les tanins:

Les tanins sont des polyphénols à haut poids moléculaire qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses. Ce sont des métabolites secondaires des plantes supérieures que l'on trouve dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, cladodes, fruits, etc.) où ils jouent le rôle d'armes chimiques défensives contre certains parasites.

La résultante du tannage est l'établissement de liaisons entre les fibres de collagène de la peau, ce qui confère à cette dernière une résistance à l'eau et à la chaleur. Cette aptitude des tanins à se combiner aux macromolécules explique qu'ils précipitent la cellulose, les pectines, les protéines. Elle explique également leur astringence, cette âpreté caractéristique: en précipitant les glycoprotéines riches en proline que contient la salive, les tanins font perdre à celle-ci son pouvoir lubrifiant.

On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique [22].

3.3.1 Tanins hydrolysables:

Sont constitués d'un noyau central-le glucose-et de chaînes latérales(en position 1,2,3,4, ou 6 sur le glucose)comprenant 1 à n monomère(s)d'acide phénol.

Ils sont à leur tour divisés en tannins galliques et tannins ellagiques, ce groupe de tanins est caractéristiques des Dicotylédones.

Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins(en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales. [1].

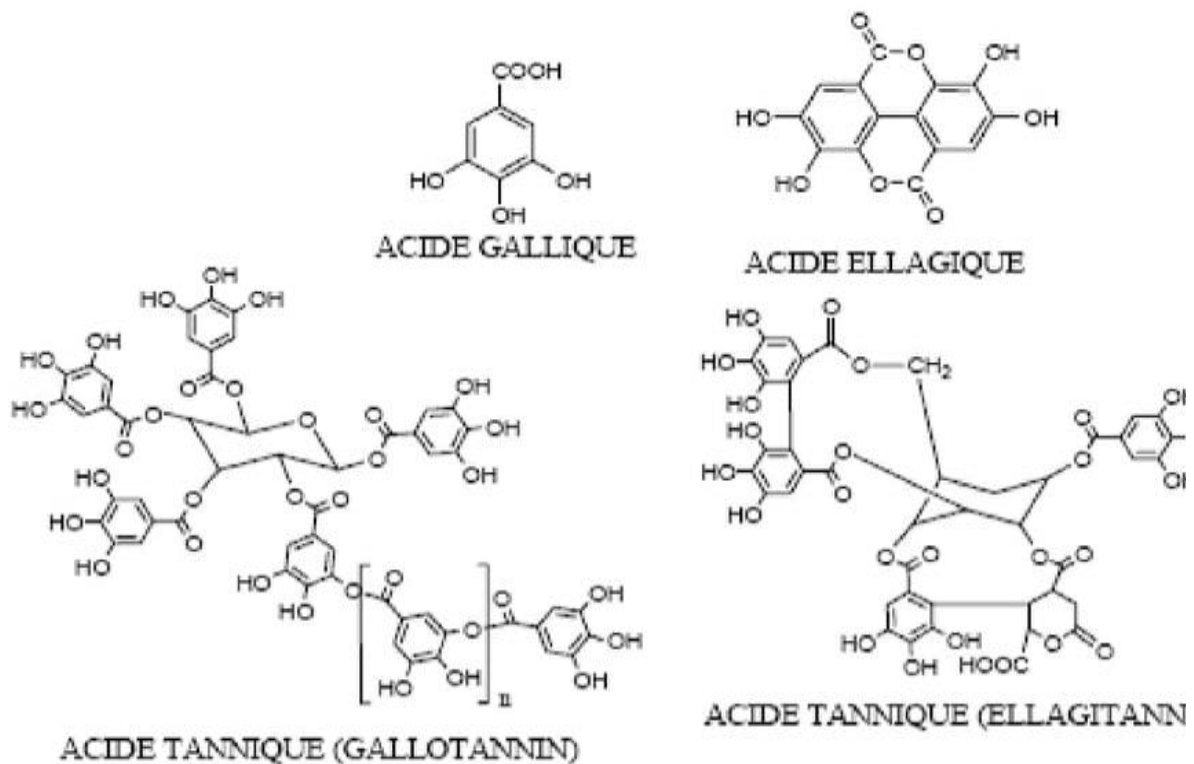


Figure 15:Structure des tanins hydrolysables[23].

3.3.2 Tanins condensés

Tannins catechiques ou proanthocyanidols qui se diffèrent fondamentalement des tannins hydrolysables par l'absence de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6[16].

Ils ont été identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères [22].

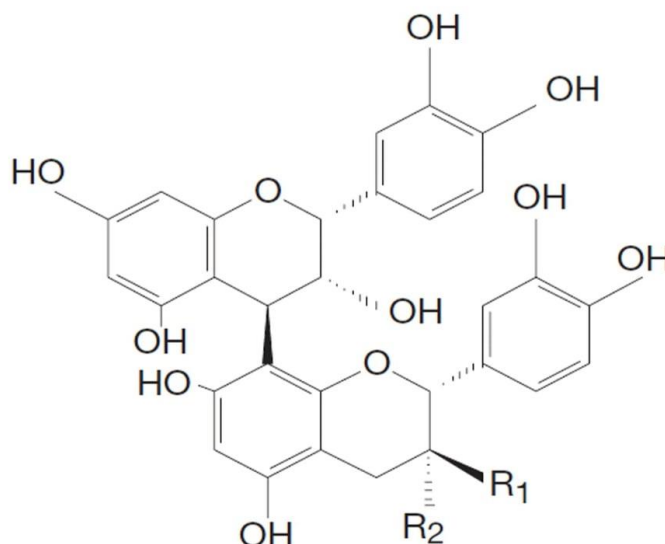


Figure 16: Structure chimique d'un tanin condensé (proanthocyanidine) [16].

Actuellement, l'utilisation des tanins couvre un vaste domaine allant de la bactériologie, virologie à l'hématologie traduisant ainsi leur importance dans la médecine humaine.

4 Biosynthèse des composés phénoliques:

La biogenèse des composés phénoliques se fait par deux grandes voies principales ; la voie d'acide shikimique et la voie d'acétate.

4.1 La voie de shikimate:

C'est la voie la plus importante. C'est la condensation de phosphoenolpyruvate et l'érythrose-4-phosphate et subit à une série de réactions qui conduisant à la formation d'acide chorismique. Ce dernier est réarrangé grâce à la chorismatémütase en acide préphénique qui est un point d'embranchement pour la synthèse des acides aminés aromatiques qui sont les précurseurs des composés phénoliques.

Après oxydation, l'acide p-hydroxyphénylpyruvique se forme pour générer l'acide cinnamique [19].

4.2 La voie d'acétate:

La glycolyse et la bêta-oxydation conduisent à la formation d'acétyl-CoA, qui produit du malonate. C'est par cette voie qu'a lieu la cyclisation de la chaîne polycétide, obtenue par la condensation répétée d'unités « acétate » par carboxylation de l'acétyl-CoA. La réaction est catalysée par l'acétyl-CoA carboxylase [19].

5 Pharmacocinétique:

5.1 Absorption:

La structure des molécules va déterminer leur taux d'absorption:

Les formes aglycones des polyphénols sont en général rapidement absorbées dans l'estomac et l'intestin grêle. Cependant, la plupart des polyphénols sont présents dans les aliments sous forme de glycosides, d'esters ou de polymères qui ne sont pas absorbés sous forme native [24].

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 [25].

Les aglycones libérés sont en partie absorbés au niveau du côlon mais de manière nettement moins efficace que dans l'intestin grêle où la surface d'échange est plus grande et le nombre de transporteurs plus conséquent[26].

Les aglycones non absorbés sont ensuite métabolisés par la flore colique en acides aromatiques plus simples par ouverture de l'hétérocycle.

5.2 Distribution:

Les polyphénols ingérés peuvent pénétrer dans les tissus et organes, en particulier au niveau des lieux de métabolisation comme l'intestin et le foie

Toutefois, les polyphénols ont également été détectés dans des organes tels que le cerveau, le cœur, les reins, le thymus, le pancréas, la prostate, les concentrations en polyphénols dans ces tissus étaient de 30 à 3000 ng d'équivalents aglycones/g de tissu selon le polyphénol considéré, la dose administrée et le tissu analysé [26].

5.3 Métabolisme:

Deux compartiments considérablement importants pour le métabolisme des composés phénoliques :

- Les tissus (foie et les reins) : où des enzymes de biotransformation agissent directement sur les flavonoïdes aglycones ainsi que sur des métabolites coliques absorbés, ces enzymes sont principalement localisés au niveau du foie, des reins, ainsi qu'au niveau de l'intestin grêle.
- Colon : où la microflore colique dégrade les flavonoïdes aglycones libérés (après hydrolyse des glycosides) par ouverture de leur hétérocycle aux différents endroits selon le type de flavonoïde concerné

5.4 Elimination :

Les polyphénols sont principalement excrétés par les voies biliaire et urinaire.

L'implication de chacune de ces voies dépend principalement de la structure des molécules. Ainsi, les métabolites hautement conjugués seront principalement éliminés dans la bile tandis que les petits conjugués comme les monosulfites seront préférentiellement éliminés par voie urinaire [27].

Les métabolites sont déversés via la bile dans le duodénum et peuvent ensuite être hydrolysés par les β -glucuronidases de la flore colique libérant ainsi les formes aglycones qui peuvent être réabsorbées au niveau de la muqueuse colique établissant ainsi un cycle entérohépatique [26].

6 Propriétés thérapeutiques :

Nombreux effets thérapeutiques décrits des polyphénols [26], qui sont illustrés dans la figure ci-dessous :

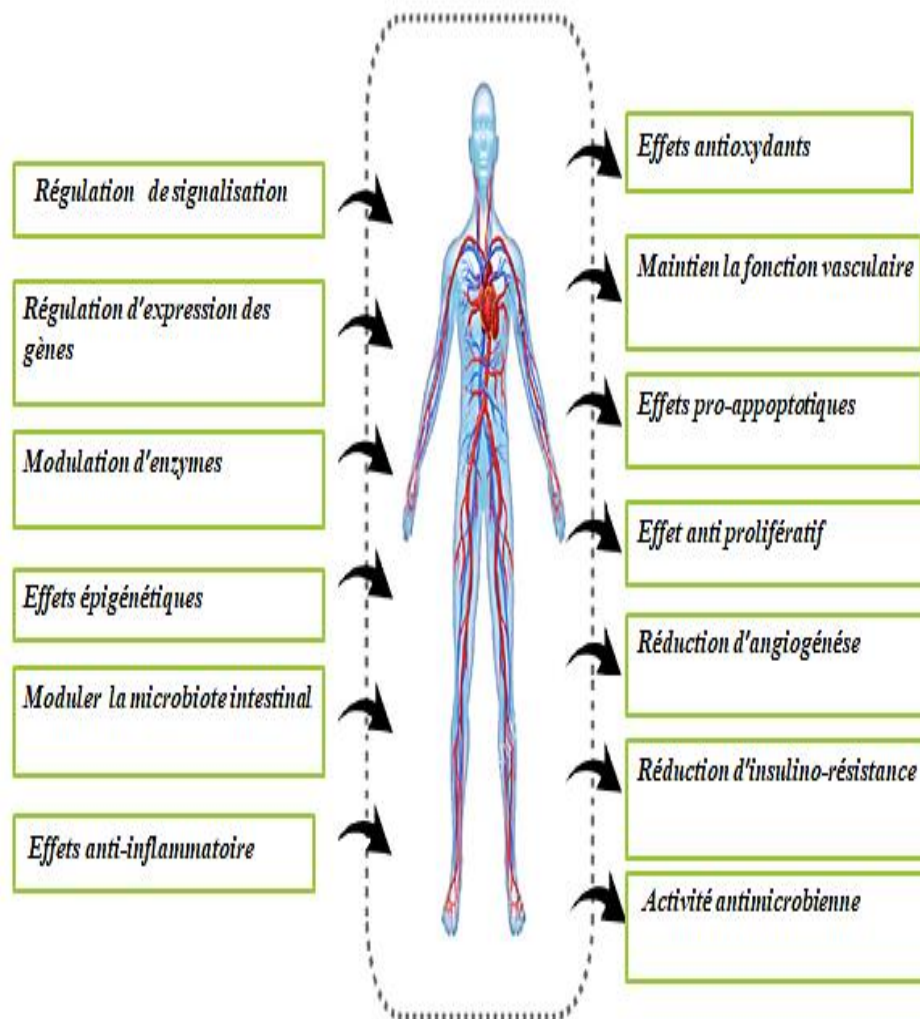


Figure 17 :Principaux effets thérapeutiques des polyphénols

7 Dosage des polyphénols totaux :**7.1 Dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu:****7.1.1 Historique:**

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi.

Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines diverses. [30]

7.1.2 Objectifs :

Ce dosage est utilisé en routine après l'avoir adapté, afin qu'il réponde aux objectifs suivants :

- Estimation globale des différentes classes des polyphénols.
- Traiter un nombre important d'échantillons et ce à partir de faible quantité de matière végétale.
- Être transposable à tout type de tissu de l'arbre (bois, feuilles, racines...).[31]

7.1.3 Principe :

C'est un dosage colorimétrique non spécifique s'effectue à partir des extraits végétaux aqueux par le réactif de Folin-Ciocalteu qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène, la coloration bleu foncé produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. [31] [32]

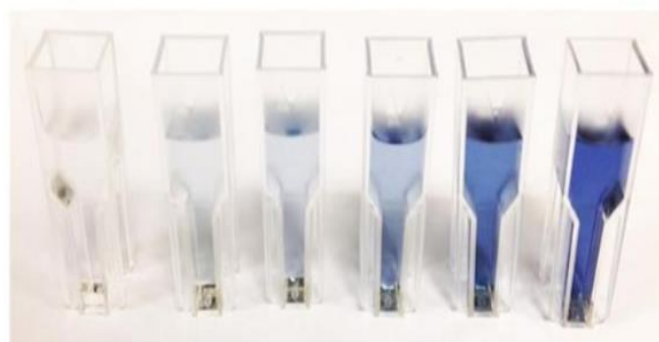
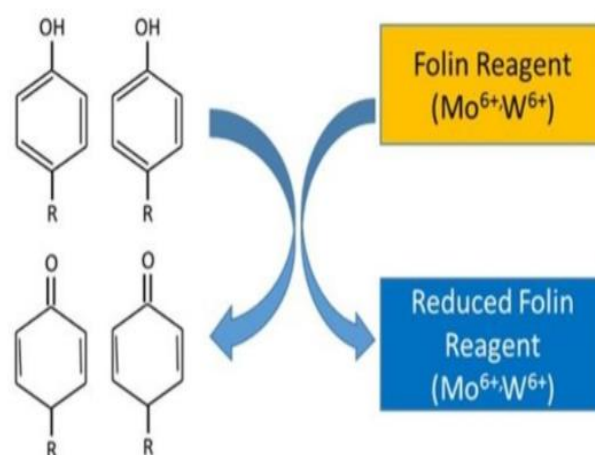


Figure 18 : Dosage des polyphénols par folin ciocalteu

Chapitre III
Extraction
solide-liquide

1 Historique :

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé certaines techniques d'extraction pour séparer des espèces chimiques naturelles présentes dans des végétaux ou des organes d'animaux, parmi ces méthodes on trouve la macération, qui est utilisée pour produire une bouillie qui peut être séparée physiquement en fractions solides et liquides [33].

2 Principe d'extraction solide-liquide :

L'extraction solide-liquide consiste à transférer un composé dans une matière première solide vers un solvant dans lequel est soluble et facilement isolable.

Le solide broyé en poudre avant l'extraction, est trempé dans le solvant à température ambiante nécessite un long temps de contact avec le liquide [34].

3 Mécanisme d'extraction :

L'extraction solide/liquide est réalisée par contact intime entre le solide et le solvant. Au cours de l'extraction, la concentration du soluté dans le solide varie sans interruption, ce qui explique un état non stationnaire de transfert de matière. Une série de processus successifs a eu lieu en traduisant l'interaction entre le solide contenant initialement le soluté, et le solvant effectuant la séparation ; ces processus concernent : [35].

1. Diffusion du solvant au sein de la matrice solide,
2. Dissolution du soluté dans le solvant,
3. Diffusion du soluté dissous dans le solvant de la matrice solide vers la surface,
4. Transfert par convection ou diffusion du soluté contenu dans la solution près du solide vers la masse restante du solvant.

Une extraction liquide-solide peut se faire par un ou une combinaison des mécanismes suivants : Adsorption, partage d'ions, échange d'ions, complexation, chélation.

3.1 Adsorption :

La technologie de séparation par adsorption est le processus au cours duquel des molécules d'un fluide (gaz ou liquide), appelé adsorbat, viennent se fixer sur la surface d'un solide, appelé adsorbant. Il existe deux types de processus d'adsorption : adsorption physique (ou physisorption) et adsorption chimique (ou chimisorption). [36].

3.2 Partage d'ions :

Elle est basée sur l'utilisation des phases greffées obtenues par synthèse. Sur un noyau généralement inerte vis-à-vis des solutés à séparer ; on greffe des groupements actifs. La séparation n'est plus fondée sur une adsorption mais sur un partage des solutés entre la phase greffée et la phase mobile. [36].

3.3 Complexation :

Les interactions complexantes ou interactions métal-ligand sont dues à la formation de liaisons datives (liaison de coordination). Elles sont fondées sur les réactions de formation de complexes

entre un soluté à séparer (ion métallique) et un ligand fixé dans la phase stationnaire par liaisons ioniques et/ou covalentes.[37].

3.4 Chélation :

Les hétéroatomes des groupes fonctionnels sont capables de chélater les métaux. Les atomes les plus fréquemment utilisés sont l'azote, l'oxygène et le soufre. La nature du groupe fonctionnel donnera une idée sur la sélectivité du ligand vers les métaux.[37].

3.5 Echange d'ions :

L'échange d'ions est un procédé dans lequel les ions d'une certaine charge contenus dans une solution (par exemple des cations) sont éliminés de cette solution par sorption sur un matériau solide (l'échangeur d'ions), pour être remplacés par une quantité équivalente d'autres ions de même charge émis par le solide. Les ions de charge opposée ne sont pas affectés. Les réactions d'échange d'ions sont réversibles et sélectives.

L'échange d'ions est à la base d'un grand nombre de procédés chimiques qui peuvent se classer en trois catégories principales : substitution, séparation et élimination [37].

4 Types d'extraction solide-liquide :

4.1 Techniques conventionnelles :

4.1.1 Extraction par l'appareil de Soxhlet:

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première[38].

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure19 :

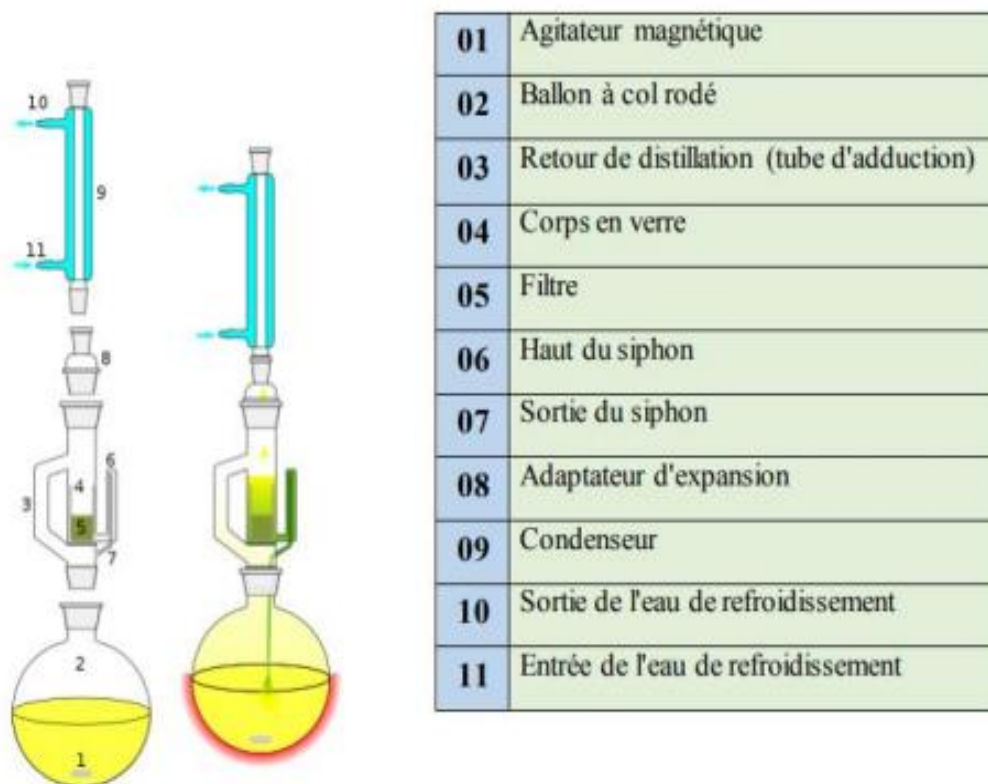


Figure 19 : Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet [39]

4.2 Techniques nouvelles (non-conventionnelles) :

4.2.1 Extraction assistée par microondes :

Les rayonnements micro-ondes sont des ondes électromagnétiques qui se propagent dans le vide à la vitesse de la lumière. Elles sont caractérisées par une fréquence comprise entre 300 MHz et 30 GHz, c'est-à-dire par une longueur d'onde comprise entre 1 m et 1 cm. Sur le spectre électromagnétique, elles sont situées entre les radiofréquences et les infrarouges.[40]

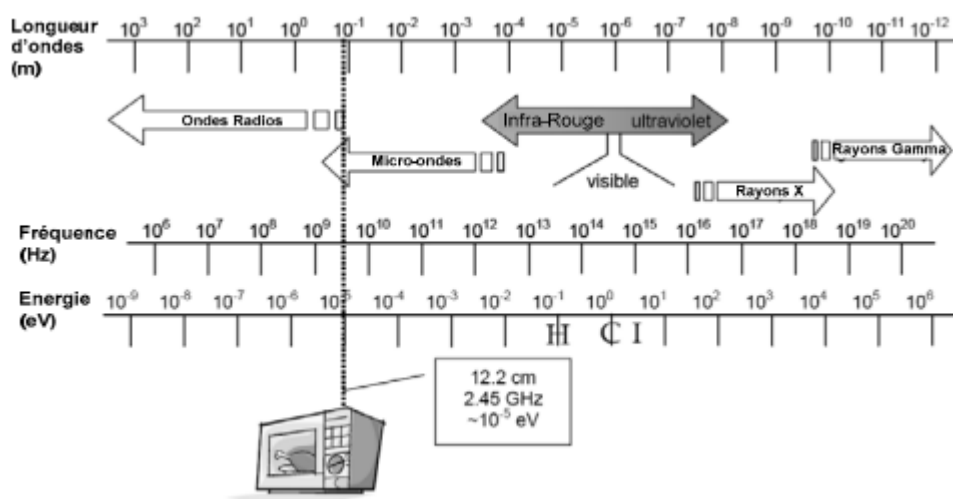


Figure 20 : Spectre électromagnétique.[40]

Les fréquences utilisables par les applications industrielles des micro-ondes sont réglementées pour éviter le risque d'interférence avec la radiocommunication et les radars, qui sont les principales utilisations des micro-ondes. La fréquence de 2,45 GHz ($\lambda = 12,2$ cm) est généralement utilisée. Le transfert de chaleur par micro-ondes représente une propriété intéressante et est donc utilisé dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles. [40]

- Les procédés d'extraction assistés par micro-ondes :
- L'extraction par solvant assistée par micro-ondes (ESMO)
- L'entraînement à l'air assistée par micro-ondes (EAMO)
- L'hydrodistillation par micro-ondes sous pression réduite (VMHD)
- L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDMO)
- L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM).

4.2.2 Extractions par ultrasons :

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente utilisée pour l'extraction des composés naturels. Ces composés sont souvent extraits par la méthode conventionnelle qui dure de nombreuses heures. L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en quelques minutes avec une reproductibilité élevée, ce qui simplifie l'opération et donne une plus grande pureté au produit final. Les ultrasons interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Un effet de cavitation est créé, ce qui facilite la libération des composés extractibles et améliore le transfert de matière en perturbant les parois cellulaires des plantes. Le choix approprié du solvant et de la température permet une meilleure extraction des composés phénoliques. [41]

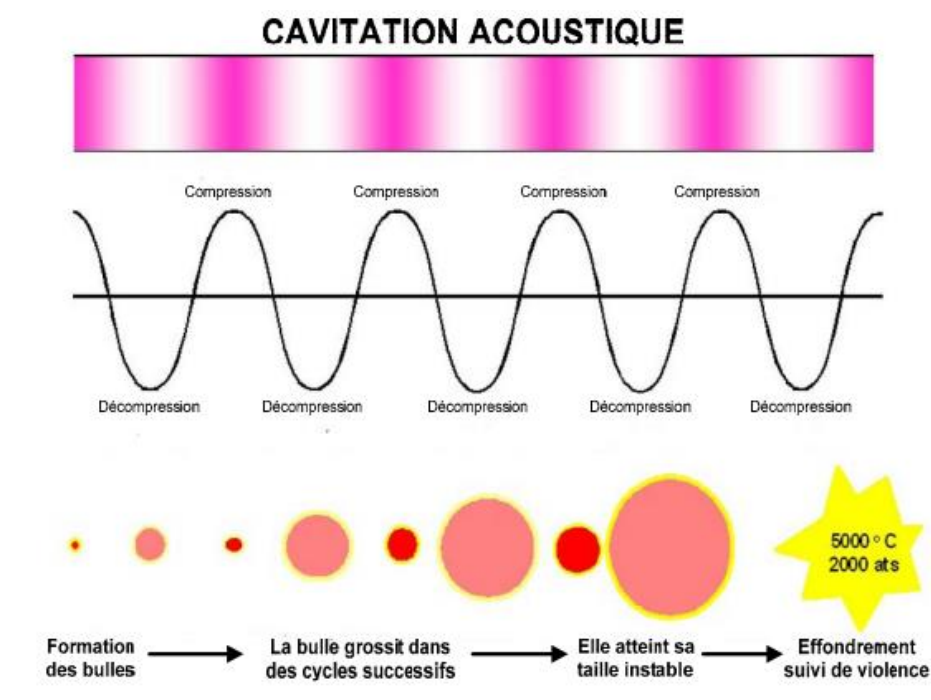


Figure21 : Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore [41]

4.2.3 Extraction accélérée par solvants :

Il s'agit d'une technique d'extraction rapide, entièrement automatisée, des composés organiques à partir des matrices solides et semi-solides. Cette technique utilise des solvants courants à des températures supérieures au point d'ébullition et des pressions élevées pour augmenter l'efficacité de l'extraction. Les avantages de la méthode comprennent la réduction spectaculaire des solvants, la large gamme d'applications et la manipulation des matrices acides et alcalines.[43]

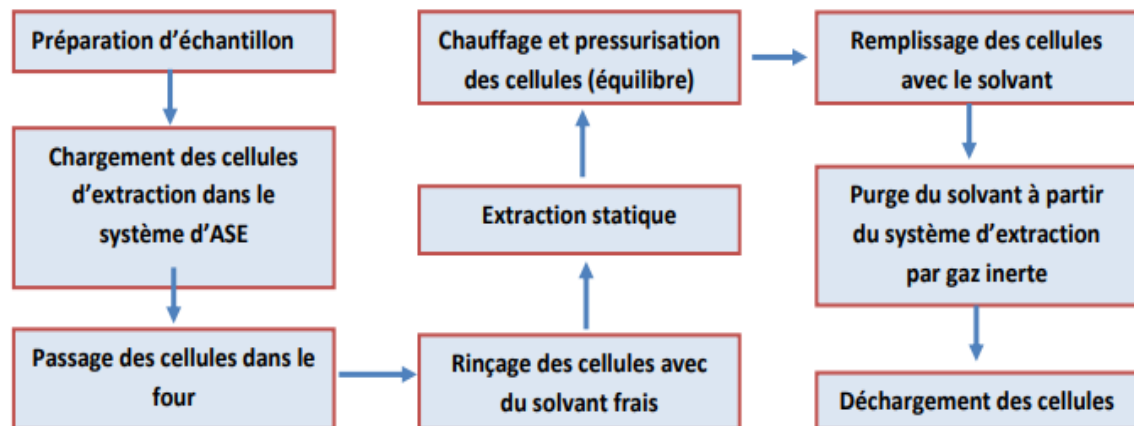


Figure 22 : Les différents étapes d'extraction par solvant accélérée.

5 Facteurs influençant les performances de l'extraction :

5.1 Taille des particules :

Généralement l'effet du broyage est positif sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide) mais également la réduction de la distance de pénétration dans le matériel. [38]

5.2 La nature du solvant :

Un solvant est, par définition, une substance qui a le pouvoir de former avec d'autres substances une solution homogène (Gerin 2002). Un solvant d'extraction est choisi en fonction de :

- Ses propriétés physiques
- La nature des substances à dissoudre,
- Ses caractéristiques économiques et son prix de revient.

Les solvants organiques de polarité faible ou nulle ne dissolvent les substances dont la structure comporte surtout des chaînes ou groupements hydrophobes. Les solvants polaires tels que l'acétone, l'eau dissolvent les substances riches en groupements hydrophiles. Certains solvants par mélange avec des proportions variables d'eau agissent comme des agents tantôt hydrophobes (éthanol absolu, éthanol à 95°) tantôt hydrophiles (éthanol à bas degré) [38]

5.3 La température :

Il est difficile de cerner de façon simple l'influence de la température sur l'extraction. Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction et ceci pour quatre principales raisons :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation,
- La gamme des hautes températures usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire,
- Elle augmente les coefficients de diffusion,
- Enfin, elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du solvant à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation.

La limite supérieure de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant, par les risques de :

- Dégradation thermique du soluté
- Risques d'extraire des composés nuisibles [35]

5.4 Temps d'extraction :

Les quantités de substances extraites sont en fonction du temps de séjour du matériel au sein du solvant (temps nécessaire à la pénétration du solvant à l'intérieur des vacuoles, dissolution du composé etc.)

Généralement, une élévation de la température traduisant l'agitation moléculaire permet de diminuer les temps de contact et ce, sans diminution notable du rendement. [35]

5.5 Degré d'agitation :

L'agitation mécanique des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu. Dans le cas de l'extraction aqueuse, l'agitation permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert. [35]

6 Le rendement d'extraction :

Un rapport entre quantité extraite et la quantité totale dans la solution. Cette grandeur dépend du rapport du volume des phases et pour une extraction effectuée avec un volume V_s de phase organique et V_e de phase aqueuse le rendement s'écrit. [44]

$$R = \frac{\text{Quantité de } A}{\text{Quantité totale de } A} \times 100$$

Chapitre IV
Plans
d'expérience

Au cours de ces dernières années, avec le progrès des logiciels, la méthode des plans d'expérience a connu un essor spectaculaire et est aujourd'hui un outil indispensable à l'amélioration de plusieurs procédés. Cependant, cette méthodologie est basée sur des règles mathématiques strictes qui exigent une démarche rigoureuse de la part de l'expérimentateur[45].

La méthode, une fois comprise, constitue une étape irréversible dans la carrière du technicien qui ne pourra plus envisager de réaliser des essais sans utiliser un plan d'expériences[46].

1 Définition des plans d'expériences :

PEX est une méthodologie mathématique utilisée pour planifier et mener efficacement une étude scientifique.

La méthode des PEX cherche à déterminer une relation entre 2 types de grandeurs :

- La réponse : qui correspond à la grandeur physique étudiée ;
- Les facteurs : qui correspondent aux grandeurs physiques modifiables par l'expérimentateur et sensées influé sur les variations de la réponse.

Cette méthode conduit à établir un plan comportant le minimum d'expériences, tout en apportant le maximum de précisions dans les résultats [46].

2 Notions statistiques :

2.1 Statistique :

La statistique est un ensemble de méthodes permettant de dégager les caractéristiques ou la répartition des objets en fonction de critères d'étude déterminés, ces méthodes tirent leurs justifications théoriques de certaines constructions mathématiques.

2.2 Population :

une population est un ensemble fini d'objets (les individus ou unités statistiques) sur lesquels une étude se porte et dont les éléments répondent à une ou plusieurs caractéristiques communes.

➤ Statistique d'une population :

- **Moyenne :**

Pour toute liste $(x_1, ..., x_n)$ de réels, on définit sa moyenne arithmétique par la formule :

$$\text{Moyenne} = \mu = \frac{1}{n} \sum x_i$$

n: le nombre d'individus,

xi: la valeur du caractère pour l'individu.

- **Variance :**

La variance est la mesure de la dispersion des échantillons autour de la moyenne.

$$V(x) = \frac{1}{n-1} n \sum_{i=1} (x_i - \mu)^2$$

Ecart type : Il est donné par la relation suivante :

$$\text{Ecarttype} = \sigma = \sqrt{\text{variance}}$$

2.3 Echantillon :

C'est un ensemble d'éléments choisis pour représenter une population étudiée statistiquement.

2.4 Caractère / Variable :

Une caractéristique de la population pouvant prendre différentes valeurs. Les variables peuvent être de différentes natures :

- Variables qualitatives et quantitatives.
- Variables indépendantes et variable dépendantes
- Variables contrôlées et non contrôlées.

2.5 Modalité :

Toute valeur que peut prendre une variable

2.6 Série statistique :

Ensemble des données recueillies pour un caractère donné à partir d'un échantillon

3 Notion d'expérience :

L'expérience est la connaissance acquise à travers l'interaction avec l'environnement. Une expérience scientifique est une interaction avec l'environnement destinée à vérifier une hypothèse dans le cadre d'une théorie réfutable. L'observateur définit et note précisément les conditions de réalisation afin qu'elle soit reproductible. [47].

4 Principaux avantages des plans d'expériences

La méthode des plans d'expériences permet une interprétation rapide et sans ambiguïté en fournissant un modèle expérimental exact du système étudié et d'établir des relations de dépendance entre certaines facteurs et certaines réponses [47].

Les principaux avantages de plans d'expériences :

- Diminution du nombre d'essais
- Possibilité d'étudier un grand nombre de facteurs
- Détection des interactions entre facteurs
- Modélisation des réponses étudiées
- Une précision optimum des résultats
- La recherche d'un optimum

5 Types de plans d'expérience :

5.1 Plans factoriels complets :

Le plan factoriel est obtenu lorsqu'au moins un essai pour chaque combinaison de facteur est réalisé. Il est parfois nécessaire d'augmenter le nombre de niveaux d'un facteur afin de mieux maîtriser l'action de ce facteur. Dans ce cas il faut être prudent, car le nombre d'expériences augmente rapidement [48]

Plus le nombre de facteurs est élevé, plus le nombre d'essais devient grand. Ce nombre augmente exponentiellement avec le nombre de facteurs. Pour cela il est rare de réaliser un plan factoriel complet ayant plus de 5 ou 6 facteurs. Mais il est possible de diminuer le nombre d'essais sans diminuer le nombre de facteurs d'où les plans factoriels fractionnaires sont inventés pour résoudre ce problème.[49]

$$\text{le nombre d'experience} = n^p$$

5.2 Plans factoriels fractionnaires :

Les plans factoriels fractionnaires sont un des aspects les plus intéressants de la méthode des plans d'expériences. Ils donnent la possibilité de réaliser des plans factoriels à k facteurs avec moins de 2k expériences. [48]

Les plans fractionnaires sont très utiles et mettent en évidence l'intérêt primordial de la méthode des plans d'expériences, qui est de permettre de diminuer considérablement le nombre d'expériences nécessaires à la construction d'un modèle. Mais cependant, il est prudent de garder un certain esprit critique face aux résultats que fournissent les plans fractionnaires. [45]

5.3 Plans non factoriels :

Les plans non factoriels sont fréquemment utilisés en vue de répondre à certains objectifs particuliers.

- Plans composites
- Plans de BOX-Behnken
- Plans de Doehlert

6 Notion de modélisation mathématique:

On choisit a priori une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus au moins élevé.[46]

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \sum a_{ii} x_i^2 + \dots$$

Où :

y : est la grandeur à laquelle s'intéresse l'expérimentateur ; c'est la réponse ou la grandeur d'intérêt,

x_i : représente un niveau du facteur i,

x_j : représente un niveau du facteur j,

a₀, a_i, a_{ij}, a_{ii} : sont les coefficients du polynôme

7 Méthodologie expérimentale

Obtenir de bons résultats par un P EX implique les sept étapes suivantes : [47].

➤ Poser des objectifs :

Tous les objectifs doivent être écrits, même ceux qui ne semblent pas très intéressants. Le groupe devrait discuter des objectifs clés et des objectifs secondaires (Bons mais pas vraiment nécessaires). La priorisation des objectifs vous aide à choisir la direction à prendre en ce qui concerne la sélection des facteurs, les réponses et un plan particulier.

➤ Sélectionner les variables du processus et leurs plages :

Les variables d'un processus incluent à la fois les entrées et les sorties - c'est-à-dire les facteurs et les réponses. Il faut Inclure tous les facteurs importants.

- Être prudent en choisissant les niveaux bas et haut des facteurs.
- Vérifier les réglages des facteurs pour des combinaisons non pratiques ou impossibles

➤ Choisir un plan expérimental :

Le choix d'un plan expérimental dépend des objectifs de l'expérience, du nombre de facteurs à étudier et de la quantité de ressources disponibles.

➤ Exécuter le plan :

Les expériences du plan sont réalisées et les résultats des essais (réponses) sont rassemblés.

➤ Vérifier que les données sont cohérentes avec les hypothèses expérimentales :

Dans tous les modèles, nous formulons des hypothèses et nous exigeons également que certaines conditions soient approximativement remplies à des fins d'estimation.

➤ Analyser et interpréter les résultats :

En supposant l'existence d'un modèle de départ que nous souhaitons l'adapter à nos données expérimentales et que l'expérience ait été conçue correctement pour notre objectif, la plupart des progiciels P EX analyseront ces données et peuvent fournir plusieurs statistiques numériques ainsi que graphiques.

➤ Présenter les résultats

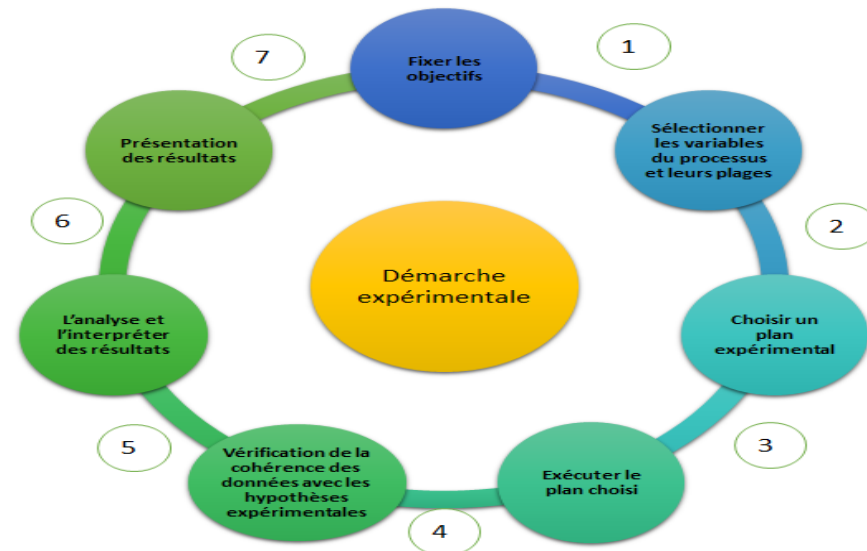


Figure 23 :Méthodologie expérimentale

7.1 Objectifs d'utilisation des plans d'expériences : [50].

7.1.1 Objectif de criblage :

Il existe souvent de nombreux facteurs possibles, dont certains peuvent être critiques et d'autres qui ne peuvent avoir que peu ou pas d'effet sur la réponse. En tant que but en soi, il est peut-être souhaitable de réduire le nombre de facteurs à un ensemble relativement petit (2 à 5), de manière à concentrer l'attention sur le contrôle de ces facteurs.

Les expériences de criblage sont un moyen efficace, avec un nombre minimal de tests, pour déterminer les facteurs importants.

7.1.2 Objectif de modélisation :

L'exploitation des modèles peut répondre à plusieurs objectifs :

➤ Objectif de prédiction :

Un modèle mathématique obtenu peut être utilisé pour prédire une réponse à un point quelconque dans les limites des domaines expérimentaux.

➤ Objectif d'optimisation :

Une optimisation est effectuée pour déterminer les valeurs des entrées du processus à utiliser pour obtenir la sortie du processus souhaitée. Les objectifs d'optimisation habituels peuvent être de maximiser le rendement d'un processus, de minimiser le temps de traitement nécessaire à la fabrication d'un produit ou d'atteindre une spécification du produit cible.

➤ Objectif d'optimisation multi-réponse (Équilibrer les compromis) :

L'objectif est de déterminer les paramètres des facteurs permettant d'optimiser simultanément (un compromis) plusieurs réponses.

PARTIE
PRATIQUE

MATERIELS
ET
METHODES

L'étude pratique a eu lieu au niveau du laboratoire de chimie analytique de département pharmacie de la faculté de médecine d'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou afin d'optimiser une méthode d'extraction des polyphénols totaux des différents organes de figuier de barbarie (cladodes, fleurs, écorces et graines).

1 Matériels :

1.1 Matières premières :

Les matières premières utilisées dans ce travail sont :

- **Raquettes**
- **Fleurs**
- **Ecorce**
- **Graine**

1.1.1 Récolte :

Les conditions de récolte de différents organes du figuier de barbarie ; *Opuntia ficus-indica* sont réunies dans le Tableau ci-dessous :

Tableau XVII: Récapitulatif des conditions de récoltes

Nom botanique	Lieu de récolte	Date de récolte	Organe	Stade de développement	Saison
<i>Opuntia ficus-indica</i>	ISSER-BOUMERDES	Janvier 2022	Cladodes	Cladodes jeunes	Hiver
		Mai 2022	Fleurs	Fleurs jeunes	Printemps
		Juillet 2022	Fruits	Fruits mûrs (estimé visuellement)	Eté

L'espèce de figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica* étudiée a été identifiée par Dr **MOKRANI** (maître-assistant en botanique médicale de la faculté de médecine Tizi-Ouzou).

1.2 Réactifs :

Les réactifs utilisés dans ce travail sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XVIII: Réactifs utilisés dans le présent travail.

Réactif	Propriétés physico-chimique	Source	Précautions d'emploi
Eau distillé	FB:H ₂ O Mr=18,01528 g/mol N CAS:7732-18-5 P: 0.9982g.cm ⁻³	Laboratoire de chimie analytique	Aucune
Ethanol absolue	FB:C ₂ H ₅ OH Mr:46.07g/mol NCAS : 64-17-5 P:0.789g.cm ⁻³	Sigma-Aldrich	 
Acétone	FB:C ₃ H ₆ O Mr:58.08g/mol N CAS:67-64-1 P:g.cm ⁻³	Biochem	 
Acetonitrile	FB:C ₂ H ₃ N Mr:41,05g/mol N CAS: 75-05-8 P:0.786g.cm ⁻³	Sigma-Aldrich	 
Folin ciocalteu	FB:C ₁₀ H ₅ NaO ₅ S MR:344,3203g/mol N CAS:521-24-4 P: 1024g.cm ⁻³	Sigma-Aldrich	
Carbonate de sodium	FB:Na ₂ CO ₃ Mr:84,007g/mol N CAS:497-19-8 P: 2.54g.cm ⁻³	Fluka	
Acide gallique	FB:C ₇ H ₆ O ₅ Mr:170.12g/mol NCAS:149-91-7 P: 1.694 g.cm ⁻³	Biochem	 
Acide cinnamique	FB:C ₉ H ₈ O ₂ Mr:148.1586g/mol N CAS:140-10-3 P: 1.2475g.cm ⁻³	Biochem	
Acide caféique	FB:C ₉ H ₈ O ₄ Mr:180.16g/mol N CAS:311-39-5 P:1.478:g.cm ⁻³	Sigma-Aldrich	 
Acide coumarique	Mr:164.15 g/mol FB:C ₉ H ₈ O ₃ N CAS:501-98-4	Sigma-Aldrich	

1.3 Appareillage et équipements :

Les appareils utilisés dans ce travail sont mentionnés dans le tableau ci-dessous:

Tableau XIX:Appareils et équipements utilisés.

Appareils	Spécifications		Usage	Photo
Spectrophotomètre UV-visible	PERKINELMER Lambda25 Double faisceaux		Mesurer L'absorbance	
Vortex	IKA MS3		Agitation	
Balance analytique	KERN ALT 220-5DAM		Pesée	
Etuve	MEMMERT		Séchage	
Distillateur	NUVE		Distillation d'eau	
HPLC SHIM-ADZU LC 20	Pompe	Lc20 at	Séparation, dosage et obtention des chromatogrammes	
	Injecteur automatique	SIL 20 A		
	Contrôleur	CBM-20		
	Compartiment de la colonne	CTO-20 A		
	Colonne	SHIMADZU SHIM-pack GIST C18		
	Détecteur	Spectrophotométrie UV visible SPD-20 AV		
	Logiciel d'exploitation	LC-solution		

1.4 Verrerie et autres :

La verrerie et les autres matériels utilisés au cours de notre pratique sont mentionnés dans le tableau ci-dessous

Tableau XX:Matérielsutilisés

Verrerie :		Autres	
Fioles 20ml, 25ml, 50ml, 100ml		spatules	
Béchers		Micropipette	
Pipettes jaugés 1ml, 2ml, 5ml, 10ml		Pro-pipette	
Verre de montre		Gants	
Entonnoir		Embouts	
Erlenmeyers		Papier filtre	
Viale à HPLC		Filtre seringue	
		Pissette	
		Compte goutte	

2 Méthode :**2.1 Enquête ethnobotanique :**

Le choix des organes de figuier de barbarie à analyser est basé sur une enquête ethnobotanique qui s'agit d'une étude statistique descriptive quantitative et qualitative menée auprès des utilisateurs des plantes médicinales.

Elle consiste à recenser les informations liées à l'usage populaire traditionnel et actuel du figuier de barbarie comme remède primaire quotidien.

Elle a été réalisée grâce à l'utilisation d'un questionnaire et déroulée au cours de la période allant de Décembre 2021 jusqu'au Mars 2022. (**Annexe 1**)

2.2 Préparation des matières premières :

La préparation des matières premières est d'une importance principale pour toute analyse fiable.

Les matières premières utilisées dans ce travail étaient préparées de la manière suivante :

2.2.1 Préparation de la poudre des cladodes:

Les raquettes ont été nettoyées par élimination des glochides, rincer à l'eau de robinet puis elles ont été découpées en petites bandelettes pour qu'elles sèchent rapidement à l'air libre pendant trois mois afin d'éliminer toute trace d'humidité. Elles ont été broyées et tamisées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène qui sera utilisée dans l'extraction des polyphénols.

La poudre des cladodes a été conservée dans des pots en plastiques hermétiquement fermés et stockés à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation des polyphénols

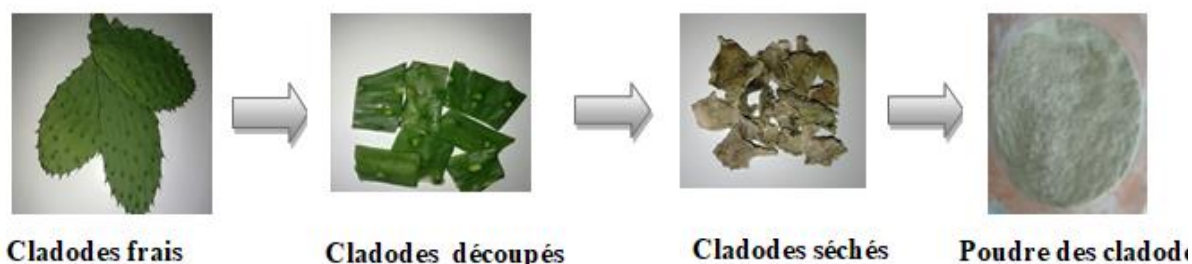


Figure 24 : Etapes de préparation de poudre de cladodes

2.2.2 Préparation de la poudre des fleurs :

Les fleurs ont été récoltées saines et jaunâtres pendant le printemps et séchées à l'air libre pendant un mois.



Figure 25 : Préparation de poudre des fleurs

2.2.3 Préparation de la poudre des graines et des écorces :

Le fruit récolté est lavé et essuyé afin de les débarrasser de tous débris cellulaires et organismes potentiellement responsables de détériorations de leur qualité, séparation de l'écorce de la pulpe, ensuite récupération des graines à partir de la pulpe.

Les écorces et les graines sont séchées à l'air libre pendant 15 jours.

Les graines et des écorces ont été broyées et tamisées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène.

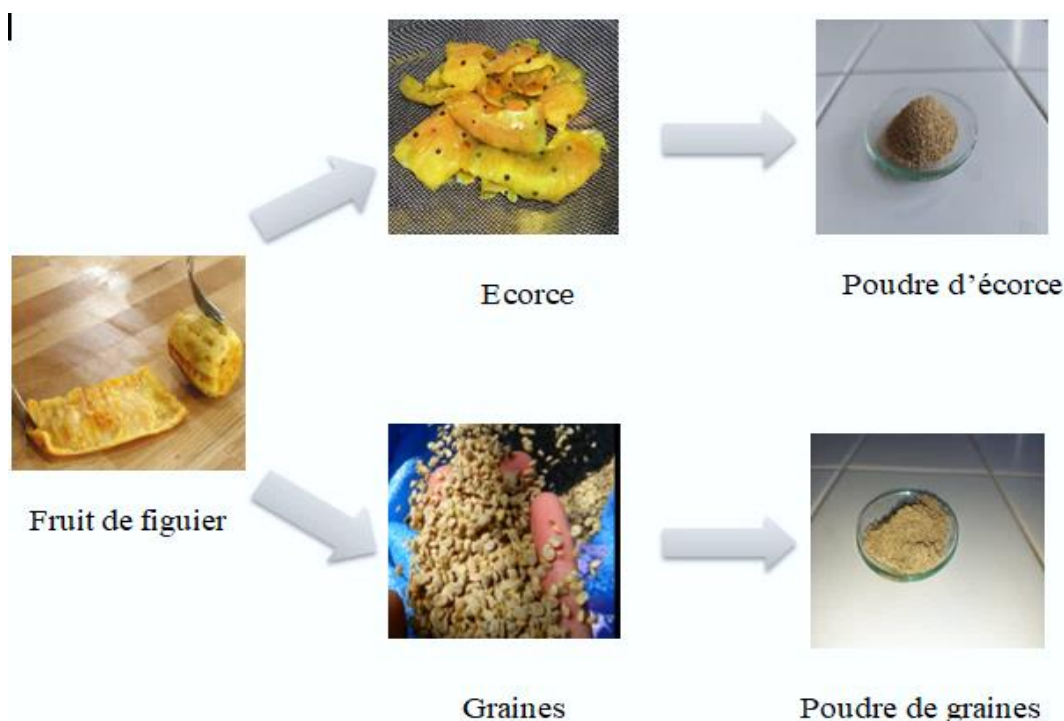


Figure 26 : Préparation de poudre des écorces et des graines

2.3 Etude quantitative :**2.3.1 Plans d'expérience :**

Cette étude a exigé des outils statistiques pour déterminer des conditions optimales pour la réalisation de notre travail, nous avons opté pour un plan factoriel complet.

Pour cela nous avons fixé trois facteurs soupçonnés influents sur le rendement de l'extraction : Température, temps d'extraction et le solvant

Nous avons attribué deux niveaux pour chaque facteur (niveau haut et niveau bas). Le nombre d'expériences qui a été réalisé est : $2^3 = 8$.

Cette méthodologie permet d'obtenir le maximum d'information tout en rassurant à l'expérimentateur plus de sûreté et de précision sur les résultats attendus. Elle a pour objectif d'optimiser les niveaux de facteurs étudiés pouvant influencer le rendement d'extraction.

La génération de la matrice d'expérience ainsi que l'analyse statistique des résultats ont été faites à l'aide du logiciel JMP.

2.3.1.1 Choix des facteurs :

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs paramètres tel que la température, la durée d'extraction et le solvant d'extraction.

Le solvant est le facteur le plus influent sur le rendement d'extraction sur les différents organes et cela s'explique par la faite que la composition en polyphénols est variable d'un organe à un autre.

La température est un paramètre qui favorise l'extraction.

La durée d'extraction est variable en fonction de l'organe.

La réponse correspond à l'absorbance des polyphénols contenus dans les différents organes du figuier de barbarie.

Les facteurs ainsi que leurs niveaux ; bas et haut sont donnés par le tableau suivant :

Tableau XXII:Facteurs influençant la quantité de polyphénols.

	Facteurs	Niveau bas (-1)	Niveau haut (+1)
X1	Solvant	Eau distillée	Acétonitrile
X2	Température	25°C	40°C
X3	Durée d'extraction	15 min	45 min

2.3.1.2 Choix de la réponse :

Le nombre de réponse est spécifique à chaque étude, dans notre cas, la réponse choisies qui permet de caractériser notre objectif est la concentration des polyphénols, qui représente le résultat mesurable potentiellement influencé par les facteurs et leurs niveaux respectifs.

2.3.1.3 Construction du plan :

L'utilisation d'un plan factoriel complet nous permet d'obtenir les informations les plus fiables en un minimum d'essais, dans le cas de notre étude, il y a trois facteurs (**k=3**) et chaque facteur est définit par un niveau haut (+1) et un niveau bas (-1) qui seront constant pendant l'expérimentation.

D'après la relation $N=2^k$ du plan factoriel complet (où N est le nombre d'essais). Au final, le nombre d'essais à réaliser pour déterminer les facteurs influençant l'extraction des polyphénols s'élève à **8** essais, chaque essai est répété 3 fois pour des raison de fiabilité, au final le plan obtenu correspond à un plan factoriel complet à 24 essais.

La fonction qui lie la réponse aux facteurs est modélisée par un modèle polynomial du premier degré avec interaction(modèle PDAI)

$$Y = a_0X + a_1X \times 1 + a_2X \times 2 + a_3X \times 3 + a_{12}X \times 1 \times 2 + a_{13}X \times 1 \times 3 + a_{123}X \times 1 \times 2 \times 3$$

Y : Vecteur des réponses

X : matrice du modèle qui dépend des points expérimentaux choisis pour exécuter le plan expérimental

A : Vecteur des coefficients

A la fin du plan d'expérience nous aurons un système à 8 équations et 8 inconnus. Pour ces inconnus ils seront déterminés après expérimentation du modèle postulé.

On peut représenter le plan soit par une matrice d'expériences (unités codées) ou bien par une matrice expérimentale (unités non codées), les matrices sont présentées dans les tableaux ci-dessous.

Ces représentations sont importantes, car elles permettent une meilleure interprétation des résultats.

2.3.1.4 Construction de la matrice :

Tableau XXIII: Matrice des effets en variables codées

Nombre d'expérience	Configuration	Durée d'extraction	Type de solvant	Température
1	---	-1	-1	-1
2	--+	-1	-1	1
3	-+-	-1	1	-1
4	-++	-1	1	1
5	+--	1	-1	-1
6	+ - +	1	-1	1
7	++-	1	1	-1
8	+++	1	1	1

Tableau XXIV: Matrice des effets en variables réelles

Nombre d'expérience	Configuration	Durée d'extraction	Type de solvant	Température
1	---	15 min	Eau	25°C
2	--+	15 min	Eau	40°C
3	-+-	15 min	Acétonitrile	25°C
4	-++	15 min	Acétonitrile	40°C
5	+--	45 min	Eau	25°C
6	+ - +	45 min	Eau	40°C
7	++-	45 min	Acétonitrile	25°C
8	+++	45 min	Acétonitrile	40°C

2.3.2 Extraction:

2.3.2.1 Préparation des solutions d'extraction:

L'extraction de polyphénols a été faite selon la procédure d'extraction conventionnelle solide-liquide sous agitation.

Peser 100mg de la poudre broyée de chaque organe dans un erlenmeyer, ajouter 20ml de solvant d'extraction : eau distillée ou acétonitrile et procéder à l'extraction en agitant tout en variant la durée d'agitation (15min et 45 min) et la température (25°C ET 40°C), puis filtrer les solutions

l'aide de papier filtre et doser les polyphénols des extraits dans les mêmes conditions que l'étalon.

2.3.3 Étalonnage :

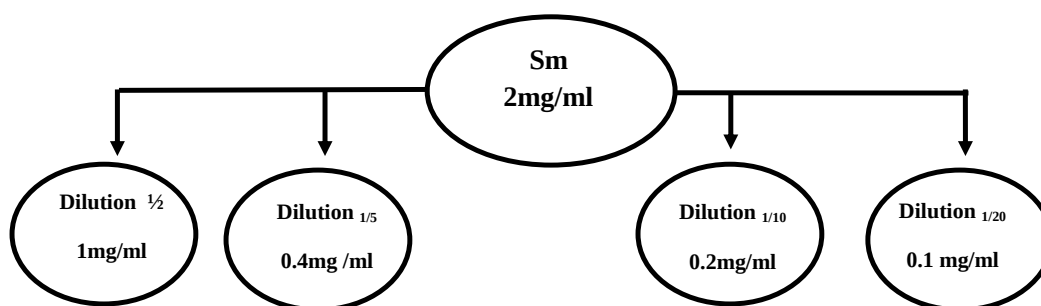
Pour déterminer la concentration des polyphénols totaux dans notre échantillon à partir des absorbances obtenues, l'utilisation d'une courbe d'étalonnage est indispensable.

2.3.3.1 Préparation de la solution mère étalon (Sm) :

Dans une fiole de 50ml, peser 100 mg d'acide gallique, faire dissoudre à l'éthanol absolu puis compléter au trait de jauge.

2.3.3.2 Préparation d'une série de dilutions à partir de Sm:

Une série de dilution préparée à partir de la solution mère d'acide gallique de la manière suivante :



Dilution 1/2 :

Prélever 10ml de la solution mère à l'aide d'une pipette jaugée de 10ml, les verser dans une fiole de 20ml et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Dilution 1/5 :

Prélever 5ml de la solution mère à l'aide d'une pipette jaugée de 5ml, les verser dans une fiole de 25ml et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Dilution 1/10 :

Prélever 2ml de la solution mère à l'aide d'une pipette jaugée de 2ml, les verser dans une fiole de 20ml et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Dilution 1/20 :

Prélever 1ml de la solution mère à l'aide d'une pipette jaugée de 1ml, les verser dans une fiole de 20ml et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.



Figure 27 :Solutions étalon.

2.3.4 Méthode de dosage :

2.3.4.1 Préparation des réactifs :

➤ Carbonate disodique :

On prépare une solution à 20% (m/v), dans une fiole de 100ml, peser 20g de bicarbonate de sodium anhydre, faire dissoudre dans l'eau distillé puis compléter jusqu'au trait de jauge.

➤ Réactif de Folin-Ciocalteu:

On prépare une dilution au 1/10 : dans une fiole de 20 ml on met 2 ml du Folin concentré et compléter jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée et homogénéiser le mélange par agitation. La conservation du réactif se fait à l'abri de la lumière et à température ambiante.

2.3.4.2 Préparation du blanc :

Prélever à l'aide d'une pipette jaugée 500µL d'eau distillée+ 500µl d'éthanol+ 1ml du folin, laisser agir pendant 3 min et ajouter 5ml de la solution carbonate disodique Na_2CO_3 .

2.3.4.3 Dosage des polyphénols totaux par réactif de folin ciocalteu:

L'étude bibliographique nous indique que le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon plusieurs protocoles qui sont résumés dans le tableau ci-dessous. [31]

Le choix de protocole de dosage été établie selon la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ayant un coefficient de corrélation proche de 1.

Tableau XXI: Protocoles de dosage effectués

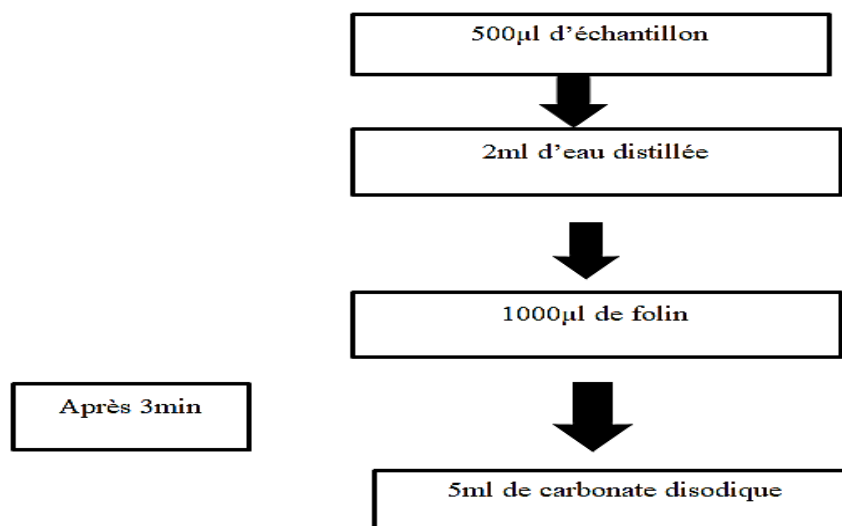
	Echantillon	Réactif de foin dilué en 1/10ème	Bicarbonate	Longueur d'onde (nm)
Protocole 1	1000µl	1000µl	10ml	750 et 765nm
Protocole 2	500µl	500µl	5ml	765nm
Protocole 3	500µl+2ml d'eau distillé	1000 µl	5ml	760nm
Protocole 4	1000µl +2ml D'eau distillée	1000µl	10ml	760nm



Figure 28: Solutions étalons dosés par le réactif de Folin ciocalteu

Prélever à l'aide d'une pipette jaugée 500 μ L d'échantillon, rajouter 2ml d'eau distillée et 1ml du folin, laisser agir pendant 3 min et ajouter 5ml de la solution carbonate disodique Na₂CO₃. Les solutions ainsi préparées, sont analysées par spectrophotométrie UV-visible a une longueur d'onde de 760 nm.

Le protocole de dosage retenu est résumé dans le schéma ci-dessous :



2.4 Etude qualitative :

L'analyse qualitative des composés phénoliques présents dans les différents extraits de l'espèce *Opuntia ficus-indica* a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), qui est une technique de séparation fiable et précise.

2.4.1 Conditions chromatographiques :

Les conditions opératoires de la CLHP sont réunies dans le tableau ci-dessous :

Tableau XXV: Conditions chromatographiques

Colonne	Longueur	25 cm	
	Diamètre	4.6 mm	
	Taille des particules	5 µm	
	Phase stationnaire	Gel de silice octadecylesilyle (C18)	
Détecteur	Spectrophotomètre UV-visible 280nm et 230nm		
Volume injecté	10µl		
Débit	1,2 ml/min		
Phase mobile	La phase mobile est constituée de deux solvants : Phase A : Solution d'acide formique à 0,1% Phase B : Acetonitrile grade HPLC à 0.4%		
Mode d'élution	Mode gradient		
	Le temps	Phase A	Phase B
	0-3.2 min	96%	4%
	3.2-32 min	96% ► 0%	4 % ► 100%
	32-34.4 min	0%	100%
	34.4-40 min	0% ► 96%	100% ► 4%
	40-46 min	96%	4%
Durée d'analyse	46min		
Température	Ambiante		

2.4.2 Préparation des solutions :**2.4.2.1 Solutions standards :**

Les standards utilisés dans cette étude qualitative sont :

- Acide gallique
- Acide caféique
- Acide p-coumarique
- Acide cinnamique.

2.4.2.1.a Préparation :

Dans des fioles de 50 ml peser 50.mg de chaque standard. Ajouter de l'eau distillée, agiter afin de les faire dissoudre puis compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

2.4.2.1.b Dilution:

A l'aide d'une pipette jaugée prélever un volume de 2 ml de chaque solution standard, dans des fioles de 20 ml puis compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge

2.4.2.2 Solutions échantillons :**2.4.2.2.a Préparation**

Dans des fioles de 20 ml peser 100 mg de poudre pour chaque organe du figuier de barbarie (Raquettes, écorces, graines).

Ajouter un volume de solvant optimale pour l'extraction de chaque organe, agiter pendant 15 min à l'aide d'un agitateur puis compléter avec le solvant jusqu'au trait de jauge, filtrer et centrifuger.

2.4.2.1.b Dilution :

A l'aide d'une pipette jaugée prélever 1 ml de chaque solution (solution raquettes, écorces et graines) dans des fioles de 20 ml puis compléter avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

RESULTATS
ET
DISCUSSION

1 Résultats

1.1 Plan d'expériences :

1.1.1 Plan factoriel complet :

Les données obtenues ainsi que la réponse analytique pour chaque organe sont résumées dans les tableaux suivants :

1.1.1.1 Les raquettes :

Tableau XXVI:Résultats obtenus pour les raquettes

N de l'expérience	Durée d'extraction	Solvant	Température	Absorbance	Rendement
1	-1	-1	-1	0,575	12,18 %
2	-1	-1	-1	0,561	11,45 %
3	-1	-1	-1	0,555	11,15 %
4	-1	-1	1	0,582	12,55 %
5	-1	-1	1	0,589	12,94 %
6	-1	-1	1	0,583	12,61 %
7	-1	1	-1	0,391	2,53 %
8	-1	1	-1	0,397	2,83 %
9	-1	1	-1	0,409	3,47 %
10	-1	1	1	0,394	2,68 %
11	-1	1	1	0,406	3,32 %
12	-1	1	1	0,412	3,63 %
13	1	-1	-1	0,59	13 %
14	1	-1	-1	0,584	12,68 %
15	1	-1	-1	0,579	12,42 %
16	1	-1	1	0,621	14,63 %
17	1	-1	1	0,627	14,94 %
18	1	-1	1	0,618	14,47 %
19	1	1	-1	0,399	2,95 %
20	1	1	-1	0,452	5,74 %
21	1	1	-1	0,425	4,32 %
22	1	1	1	0,396	2,85 %
23	1	1	1	0,417	3,79 %
24	1	1	1	0,429	4,53 %

1.1.1.2 Les fleurs :**Tableau XXVII:**Résultats obtenus pour les fleurs

N° de l'expérience	Durée d'extraction	Solvant	Température	Absorbance	Rendement
1	-1	-1	-1	0,41	3,53%
2	-1	-1	-1	0,415	3,79%
3	-1	-1	-1	0,406	3,31%
4	-1	-1	1	0,426	4,36%
5	-1	-1	1	0,419	4,01%
6	-1	-1	1	0,428	4,47%
7	-1	1	-1	0,466	6,47%
8	-1	1	-1	0,463	6,32%
9	-1	1	-1	0,468	6,58%
10	-1	1	1	0,48	7,21%
11	-1	1	1	0,485	7,47%
12	-1	1	1	0,482	7,32%
13	1	-1	-1	0,41	3,53%
14	1	-1	-1	0,419	3,98%
15	1	-1	-1	0,406	3,32%
16	1	-1	1	0,438	5,00%
17	1	-1	1	0,443	5,26%
18	1	-1	1	0,435	4,84%
19	1	1	-1	0,495	8,03%
20	1	1	-1	0,489	7,68%
21	1	1	-1	0,484	7,42%
22	1	1	1	0,512	8,89%
23	1	1	1	0,519	9,26%
24	1	1	1	0,509	8,74%

1.1.1.3 Les écorces :**Tableau XXVIII:**Résultats obtenus pour l'écorce

N° de l'expérience	Durée d'extraction	Solvant	Température	Absorbance	Rendement
1	-1	-1	-1	0,45	5,63%
2	-1	-1	-1	0,448	5,52%
3	-1	-1	-1	0,446	5,38%
4	-1	-1	1	0,483	7,35%
5	-1	-1	1	0,489	7,67%
6	-1	-1	1	0,493	7,89%
7	-1	1	-1	0,501	8,30%
8	-1	1	-1	0,505	8,46%
9	-1	1	-1	0,499	8,20%
10	-1	1	1	0,52	9,31%
11	-1	1	1	0,518	9,20%
12	-1	1	1	0,524	9,52%
13	1	-1	-1	0,489	7,63%
14	1	-1	-1	0,49	7,72%
15	1	-1	-1	0,487	7,57%
16	1	-1	1	0,495	7,93%
17	1	-1	1	0,498	8,00%
18	1	-1	1	0,491	7,78%
19	1	1	-1	0,531	9,88%
20	1	1	-1	0,528	9,71%
21	1	1	-1	0,526	9,60%
22	1	1	1	0,555	11,15%
23	1	1	1	0,561	11,47%
24	1	1	1	0,549	10,82%

1.1.1.4 Les graines:

Tableau XXIX: Résultats obtenus pour les graines

N° de l'expérience	Durée d'extraction	Solvant	Température	Absorbance	Rendement
1	-1	-1	-1	0,516	9,11%
2	-1	-1	-1	0,529	9,79%
3	-1	-1	-1	0,521	9,37%
4	-1	-1	1	0,549	10,84%
5	-1	-1	1	0,539	10,31%
6	-1	-1	1	0,546	10,68%
7	-1	1	-1	0,681	17,92%
8	-1	1	-1	0,692	18,36%
9	-1	1	-1	0,678	17,63%
10	-1	1	1	0,690	18,26 %
11	-1	1	1	0,693	18,42%
12	-1	1	1	0,726	20,16%
13	1	-1	-1	0,556	11,21%
14	1	-1	-1	0,568	11,84%
15	1	-1	-1	0,590	13,00
16	1	-1	1	0,582	12,57%
17	1	-1	1	0,594	13,21%
18	1	-1	1	0,579	12,42%
19	1	1	-1	0,875	28,03%
20	1	1	-1	0,865	27,47%
21	1	1	-1	0,799	24,00%
22	1	1	1	0,892	28,89%
23	1	1	1	0,880	28,26%
24	1	1	1	0,899	29,26%

1.1.2 Validation du modèle :

Afin de valider le modèle obtenu, il faut d'abord procéder à la vérification de l'adéquation du modèle mathématique et la détermination des paramètres significatifs ainsi que l'analyse des variances.

Grace au logiciel JMP ®16 pro il est maintenant possible d'obtenir directement le modèle mathématique :

- **Raquette** : $Y = 8,803 + 0,748 \times 1 - 4,461 \times 2 + 0,206 \times 3 + 0,043 \times 1 \times 2 - 0,023 \times 1 \times 30,468 \times 1 \times 2 \times 3$
- **Fleur** : $Y = 6,105 + 0,527 \times 1 + 1,73 \times 2 + 0,51 \times 3 + 0,282 \times 1 \times 2 + 0,117 \times 1 \times 3 + 0,02 \times 1 \times 2 \times 3$
- **Ecorce** : $Y = 8,571 + 0,696 \times 1 + 1,261 \times 2 + 0,648 \times 3 + 0,146 \times 1 \times 2 - 0,181 \times 1 \times 3 + 0,013 \times 1 \times 2 \times 3$
- **Grains** : $Y = 17,831 + 3,843 \times 1 + 6,321 \times 2 + 0,536 \times 3 + 1,648 \times 1 \times 20,176 \times 1 \times 3 + 0,221 \times 1 \times 2 \times 3$

Les figures ci-dessous correspondantes aux différents organes du figuier de barbarie donnent une première évaluation du modèle établie, une dispersion homogène est constatée rapprochée de la droite de régression. Ceci est traduit par le coefficient de détermination proche de 0,99 qui représente la capacité du modèle à prédire les résultats.

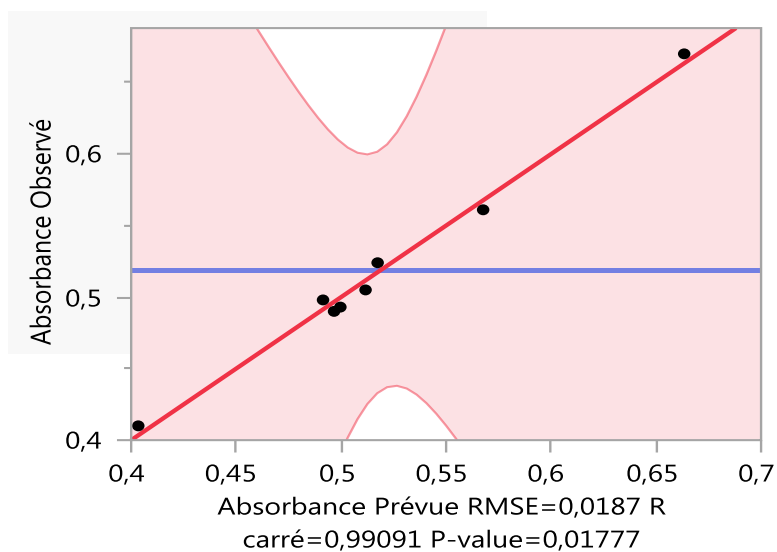


Figure29 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues

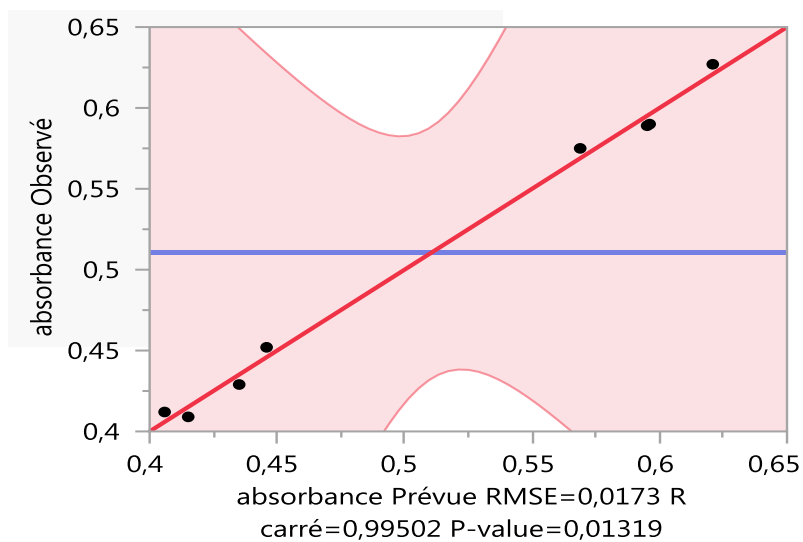


Figure 30 : Courbe linéarité de la méthode pour les raquettes

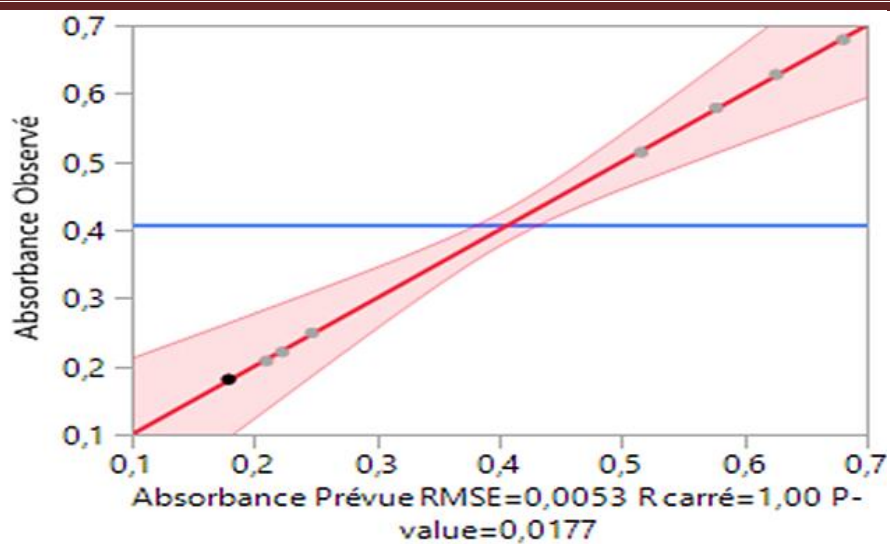


Figure 31 : Courbe linéarité de la méthode pour les fleurs

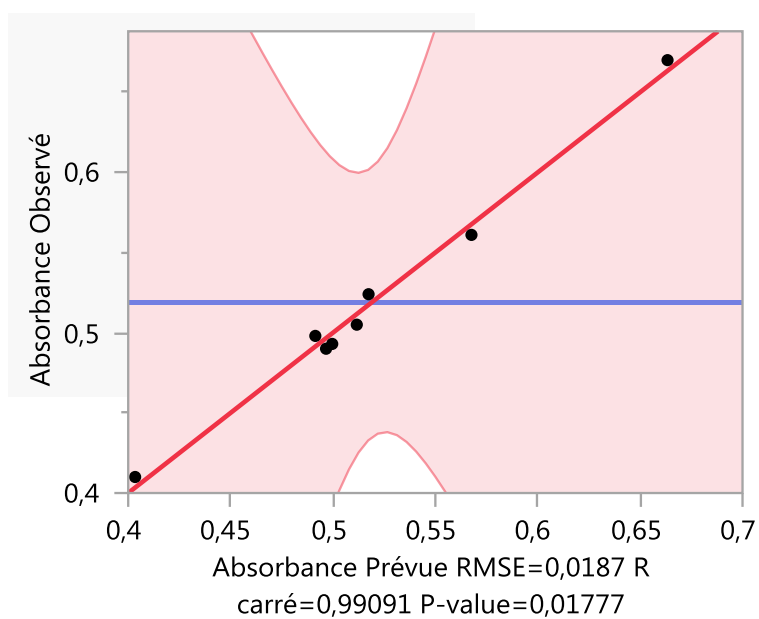


Figure 32 : Courbe linéarité de la méthode pour les écorces

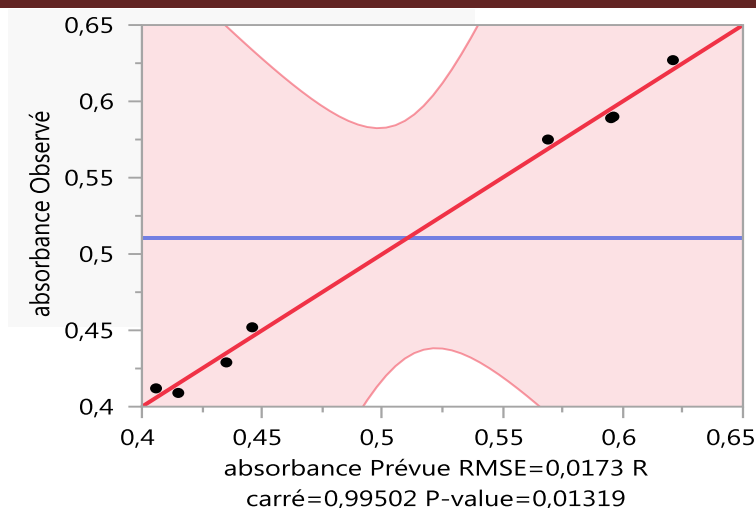


Figure 33 : Courbe linéarité de la méthode pour les graines

1.1.3 Facteurs influençant :

Facteurs influençant et non influençant sur l'extraction des polyphénols présents dans les différents organes du figuier de barbarie sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXX: Facteurs influençant et non influençant sur l'extraction des polyphénols présents dans les différents organes du figuier de barbarie

Source	Log Worth	P-value
X2	2,455	0,00351
X1	2,151	0,00706
X1*X2	1,885	0,01303
X3	1,398	0,04001
X2*X3	1,016	0,09637
X1*X3	0,919	0,12045

➤ Raquettes :

Source	Log Worth	P-value
X2	1,339	0,04586
X1	0,584	0,026048
X2*X3	0,415	0,038457
X3	0,193	0,04089 ^
X1*X2	0,041	0,049067
X1*X3	0,017	0,049107

➤ Fleurs :

Source	Log Worth		P-value
X2	1,922		0,01196
X1	1,407		0,03917
X3	1,392		0,04051
X1*X2	1,137		0,07292
X1*X3	0,765		0,17179
X2*X3	0,188		0,64881

➤ Écorce :

Source	Log Worth		P-value
X2	1,042		0,009082
X1	0,935		0,011625
X3	0,789		0,016258
X2*X3	0,741		0,018134
X1*X2	0,567		0,04270
X1*X3	0,005		0,098799 ^

➤ Graine :

Source	Log Worth		P-value
X2	2,455		0,00351
X1	2,151		0,00706
X1*X2	1,885		0,01303
X3	1,398		0,04001
X2*X3	1,016		0,09637
X1*X3	0,919		0,12045

Au seuil de 5% les facteurs significatifs pour les différents organes du figuier de barbarie sont la durée d'extraction la température et solvant d'extraction.

1.1.4 Analyse des variances:**1.1.4.1 Evaluation du plan:**

Les résultats sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

TableauxXXXI:Analyse des variances des différentes organes

➤ **Raquettes :**

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Prob. > F
X1	23	4,48501	5,5179	0,02562
X2	23	159,22201	195,8902	0,0454*
X3	23	3,4031	0,4187	0,06344
X1*X2	23	0,1531	0,0188	0,009132
X1*X3	23	0,451	0,056	0,049527
X2*X3	23	1,75781	2,1626	0,03802
Résidu		0,0002345		

➤ **Fleurs :**

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Prob. > F
X1	23	2,226050	263,4379	0,0392*
X2	23	23,943200	2833,515	0,0120*
X3	23	2,080800	246,2485	0,0405*
X1*X2	23	0,638450	75,5562	0,04729
X1*X3	23	0,110450	13,0710	0,01718
X2*X3	23	0,3200	0,3787	0,046488
Résidu		0,0000456		

➤ Ecorce :

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Prob. > F
X1	23	3,878113	4,9245	0,02695
X2	23	12,726013	16,1598	0,01552
X3	23	3,367012	4,2755	0,02868
X1*X2	23	0,171113	0,2173	0,03723
X1*X3	23	0,262812	0,3337	0,0465
X2*X3	23	0,1512	0,1945	0,0272
Résidu		0,00987		

➤ Graine :

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Prob. > F
X1	23	74,11531	8133,368	0,0071*
X2	23	299,75761	32895,21	0,0035*
X3	23	2,30051	252,4568	0,0400*
X1*X2	23	21,74701	2386,503	0,0130*
X1*X3	23	0,24851	27,2716	0,01204
X2*X3	23	0,39161	42,9753	0,00964
Résidu		0,00144		

1.1.5 Estimation des coefficients :

Les estimations des coefficients sont données dans les tableaux ci-dessous.

Tableau XXXII: Estimation des coefficients des différents organes.

➤ **Raquettes :**

Terme	Estimation	Erreur standard	T ratio	Prob. > t
Constante	8,80375	0,31875	27,62	0,0230*
X1	0,74875	0,31875	2,35	0,2562
X2	-4,46125	0,31875	-14,00	0,0454*
X3	0,20625	0,31875	0,65	0,6344
X1*X2	0,04375	0,31875	0,14	0,9132
X1*X3	-0,02375	0,31875	-0,07	0,9527
X2*X3	-0,46875	0,31875	-1,47	0,3802

➤ **Fleurs :**

Terme	Estimation	Erreur standard	T ratio	Prob. > t
Constante	6,105	0,0325	187,85	0,0034*
X1	0,5275	0,0325	16,23	0,0392*
X2	1,73	0,0325	53,23	0,0120*
X3	0,51	0,0325	15,69	0,0405*
X1*X2	0,2825	0,0325	8,69	0,0729
X1*X3	0,1175	0,0325	3,62	0,1718
X2*X3	0,02	0,0325	0,62	0,6488

➤ **Ecorce :**

Terme	Estimation	Erreur standard	T ratio	Prob. > t
Constante	8,57125	0,31375	27,32	0,0233*
X1	0,69625	0,31375	2,22	0,2695
X2	1,26125	0,31375	4,02	0,1552
X3	0,64875	0,31375	2,07	0,2868
X1*X2	0,14625	0,31375	0,47	0,7223
X1*X3	-0,18125	0,31375	-0,58	0,6665
X2*X3	0,01375	0,31375	0,04	0,9721

➤ Graine :

Terme	Estimation	Erreur standard	T ratio	Prob. > t
Constante	17,83125	0,03375	528,33	0,0012*
X1	3,04375	0,03375	90,19	0,0071*
X2	6,12125	0,03375	181,37	0,0035*
X3	0,53625	0,03375	15,89	0,0400*
X1*X2	1,64875	0,03375	48,85	0,0130*
X1*X3	-0,17625	0,03375	-5,22	0,1204
X2*X3	0,22125	0,03375	6,56	0,0964

1.2 Optimisation d'extraction :**1.2.1Analyse quantitative :****1.2.1.1 Etalonnage :**

Les résultats des absorbances des différents solutions étalons d'acide gallique pour chaque répétitions sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XXXIII:Absorbances des solutions étalons

Solution	Concentration (mg/ml)	Absorbance (nm) :
S1 (étalon 1)	1	0.769
S2 (étalon 2)	0.4	0.539
S3 (étalon2)	0.2	0.466
S4 (étalon2)	0.1	0.39

En utilisant les données du tableau ci-dessus, la droite de régression linéaire est représentée dans la figure ci-dessous, avec lesquelles on a déterminé les concentrations de nos échantillons expérimentaux.

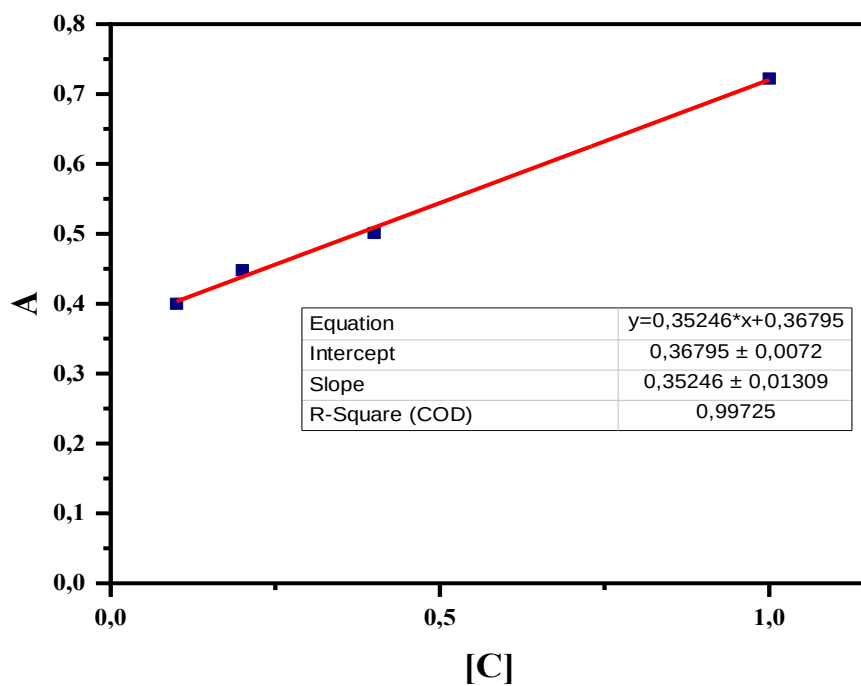


Figure 34 : Courbe d'étalonnage

1.2.2 Etude qualitative :

Les chromatogrammes obtenus pour les quatre organes du figuier de barbarie sont illustrés dans les figures ci-dessous :

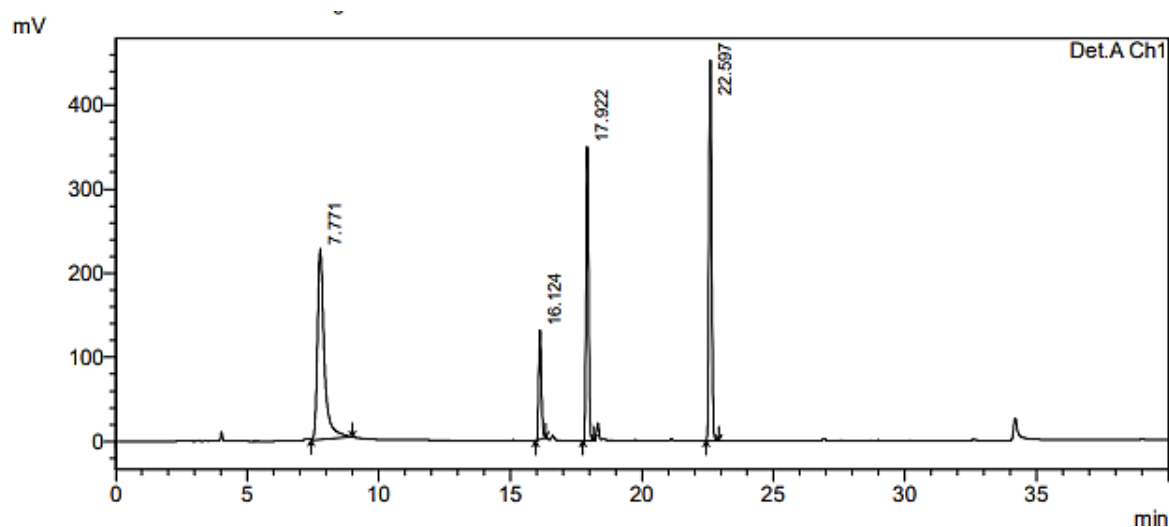
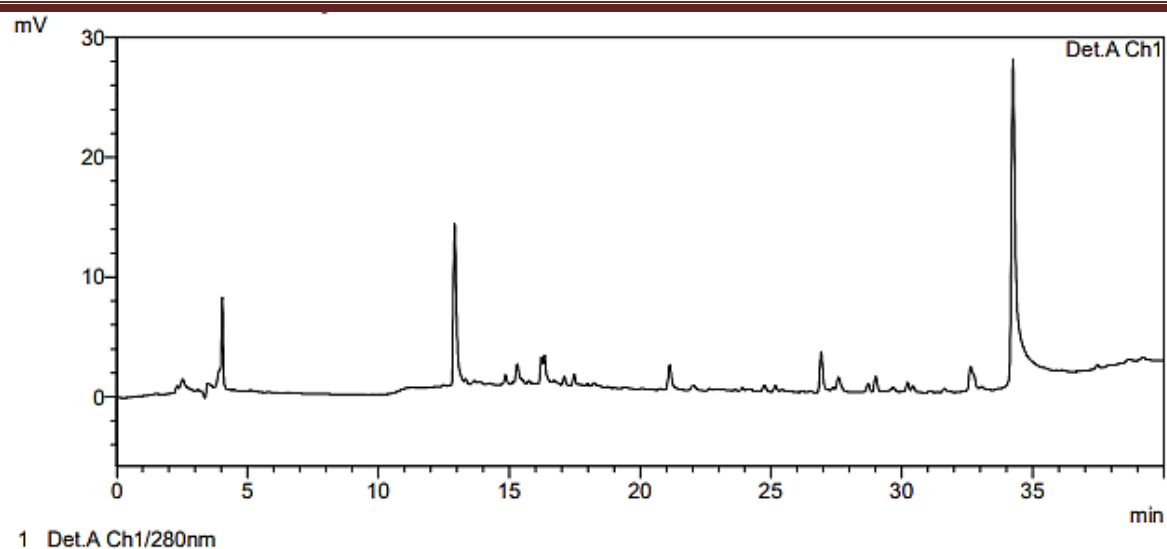
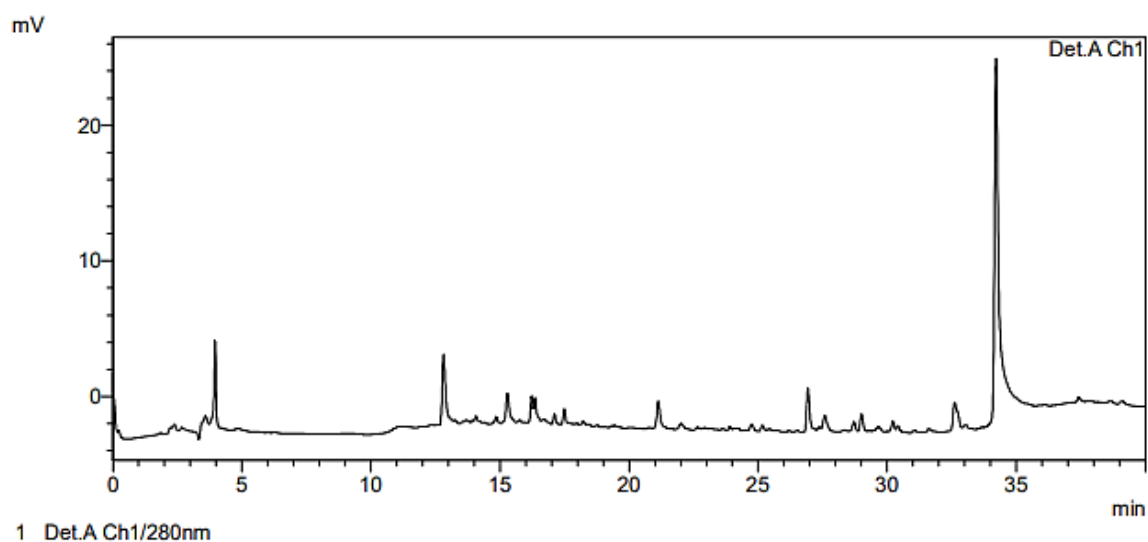
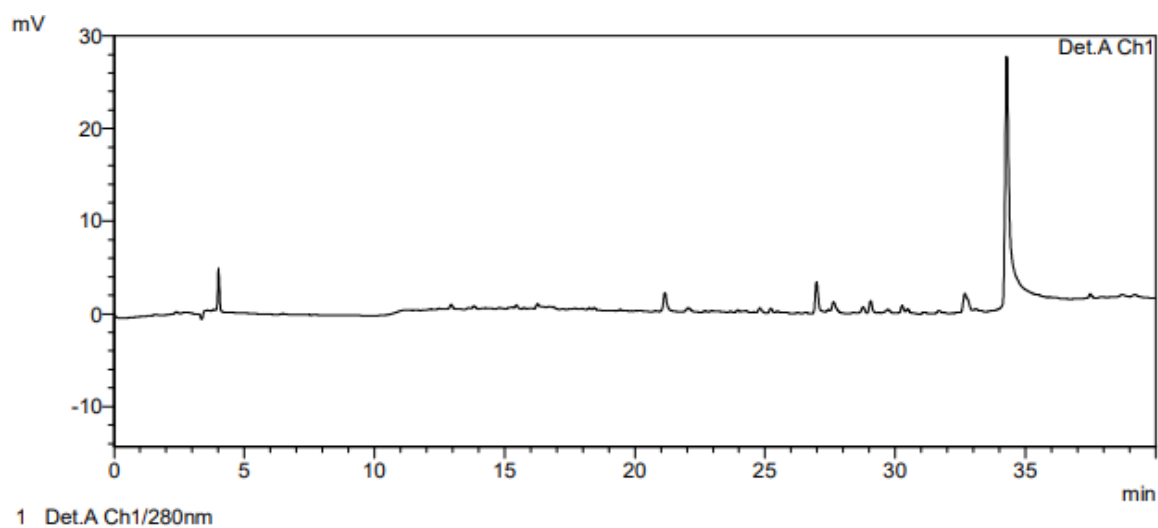


Figure 35 :Chromatogramme des standards

**Figure 36 : Chromatogramme des raquettes****Figure 37 : Chromatogramme des écorces****Figure 38 : Chromatogramme des graines**

2 Discussion :

2.1 Plan d'expérience

2.1.1 Choix du plan d'expérience

Le plan d'expérience choisi est un plan factoriel complet à trois facteurs (temps d'agitation, le solvant d'extraction et la température) à raison de deux niveaux par facteur : un niveau inférieur symbolisé par -1 et un niveau supérieur nommé +1.

2.1.2 Validation du plan d'expérience

a. Adéquation du modèle

Selon les différentes représentations graphiques obtenues avec les quatre organes du figuier de barbarie qui sont les fleurs, les raquettes, les graines ainsi que les écorces ; une distribution homogène est constatée, cela s'explique par le coefficient de détermination qui est supérieur ou égale à 0,99 pour toutes les représentations graphiques des valeurs observées en fonction des valeurs estimées pour les 4 organes ; on conclue que le modèle est adéquat.

b. Facteurs significants

Selon les différents histogrammes obtenus des quatre composants fleurs, raquettes, graines et écorces, pour un seuil de 5% les facteurs significatifs pour l'absorbance des polyphénols sont le temps d'agitation, le solvant d'extraction et la température.

c. Analyse des variances et des résidus

L'analyse des variances consiste à étudier la dispersion des réponses due aux facteurs, Selon cette analyse effectuée sur les différents organes on constate p-value inférieur à 0.05 ce qui confirme que notre modèle explique une grande dispersion des réponses.

Les résidus quant à eux sont dus à l'erreur expérimentale.

2.2 Analyse quantitative

2.2.1 Courbe d'étalonnage

Pente = 0,35246

Ordonnée à l'origine = 0.36795

Le Coefficient de détermination = 0,99725

La qualité d'une méthode analytique dépend fortement de la linéarité de la courbe d'étalonnage.

Une courbe d'étalonnage linéaire est une indication positive que toutes les mesures futures seront proches des vraies valeurs du contenu de l'analyte dans l'échantillon.

Cette linéarité est généralement évaluée par le coefficient de détermination R^2 .

On considère qu'un coefficient de corrélation proche de l'unité $R^2 = 1$ est suffisant pour conclure que la courbe d'étalonnage est linéaire. Le $R^2 = 0.99725$ obtenu pour notre courbe d'étalonnage, a montré la bonne relation linéaire entre la concentration et l'absorbance. [51]

2.2.2 Dosage des polyphénols totaux**a. Raquette**

Le rendement maximal obtenu est de 14.94% dans les conditions suivantes : l'eau distillée comme solvant pour un temps d'agitation de 45min sous une température de 40°C.

b. Ecorce

L'extraction optimale se fait avec l'acétonitrile pendant 45 min sous un chauffage à 40°C. Le rendement d'extraction des polyphénols obtenue dans l'écorce est de 11.47%

c. fleurs

Un rendement de 9.26% est obtenu à l'aide de l'acétonitrile durant 45 min sous un chauffage à 40°C.

d. Graine

Un maximum d'extraction de 29.26% des polyphénols a été obtenu dans les graines dans les conditions suivantes : Solvant : acétonitrile, temps d'agitation : 45 min, T= 40°C

2.3 Analyse qualitative**a. Standard**

Ordre d'élution des standards sont comme suit :

Acide gallique : 7,71min

Acide caféique : 16,12 min

Acide p-coumarique : 17,92min

Acide cinnamique 22,69min

b. Echantillons

Différentes substances ont été enregistrées mais le manque de standards empêche l'identification de ces derniers ; seuls les acides caféique, cinnamique et p-coumarique ont été identifiés dans les organes du figuier de barbarie :

- Raquette : Identification de l'acide caféique, l'acide p-coumarique et l'acide cinnamique.
- Grains : Identification de l'acide cinnamique.
- Ecorce : Identification de l'acide caféique, l'acide p-coumarique et l'acide cinnamique.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVE

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à optimiser un procédé d'extraction liquide-solide des polyphénols dans les différents organes d'*Opuntia ficus-indica*. Cette plante est connue pour ces vertus antioxydants et cicatrisantes dans la médecine traditionnelle.

Des screening photochimiques de la plante issus de différentes études, ont révélé la présence d'une grande variété de polyphénols dans cette dernière. Ces composés sont connus pour leur capacité à absorber dans UV ce qui nous permet de les doser par spectrophotométrie.

Lors de cette étude on s'est intéressés aux raquettes, fleurs, graines et écorces du figuier de barbarie qui constituent une excellente source des composés phénoliques.

Plusieurs techniques existent pour extraire ces composés polyphénoliques à partir d'une matière végétale. Dans notre étude la méthode choisie est la procédure d'extraction conventionnelle solide-liquide sous agitation.

L'intérêt que nous portant à cette méthode est dû à son efficacité, sa simplicité ainsi que son faible cout.

Pour réaliser notre étude plusieurs stratégies ont été planifiées :

Premièrement,nous avons choisi un plan d'expérience factoriel complet à trois facteurs :

Température, temps d'agitation et le solvant, ensuite la construction d'une matrice des effets après cela on a procédé l'extraction solides-liquide des composés phénoliques.

Deuxièmement,nous avons effectué un dosage quantitatif des polyphénols totaux en se référant à la méthode de folin-Ciocalteu ensuite et un dosage qualitatif par HPLC.

D'après notre étude expérimentale, un rendement maximal de 29,26% des polyphénols extraits à partir des grains a été obtenu dans les conditions suivantes : durée d'agitation de 45 min, température fixée a 40 °C en utilisant l'acétonitrile comme solvant d'extraction.

A cette fin, il faut penser également à élargir et consolider les travaux de recherches sur cette plante.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1. Benattia FA. Analyse et Application des Extraits de Pépins de Figues de Barbarie [Thèse]. Tlemcen :Université Abou beker Belkaid ; 2017.
2. Pradal D. (2016). Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un coproduit agro-alimentaire. Tese de doctorat. Université Lille1. 216p
3. Boutakiout A. Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (*Opuntia ficus-indica* et *Opuntia megacantha*) [Thèse] .Maroc :Université de Sultan Moulay Slimane; 2015.
4. Schweizer M. Docteur Nopal le médecin du bon dieu. Paris, France : Aloe Plantes et Beauté ;1997.
5. Ghédira K. Goetz P. Fiquier de barbarie : *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae).France :Lavoisier SAS ;2018.
6. Habibi Y. Contribution à l'étude morphologique, ultra structurale et chimique de la figue de barbarie: Les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique[Thèse]. France :Université Joseph Fourier; 2004.
7. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture [Internet]. [cité 20 janvier 2022]. Disponible sur: <https://www.fao.org/home/fr>
8. BG, Ting IP, Sutton R. Carbohydrate Metabolism of Cactus in a Desert Environment. *Plant Physiol.* 1981;68(3):784- 7.
9. Phytochemical Content, Nutraceutical Potential and Biotechnological Applications of an Ancient Mexican Plant: Nopal (*Opuntia ficus-indica*) [Internet]. [cité 11 janv 2022]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/265390699_Phytochemical_Content_Nutraceutical_Potential_and_Biotechnological_Applications_of_an_Ancient_Mexican_Plant_Nopal_Opuntia_ficus-indica
10. Rai A. Effet du stress salin sur les bactéries du sol : rôle d'extraits dérivés de *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* et *Opuntia ficus-indica* sur la relation bactérie plante sous stress salin[Thèse].Sétif :Université Ferhat Abbas ; 2017.
11. Stintzing FC, Carle R. Cactus stems (*Opuntia* spp.): a review on their chemistry, technology, and uses. *Mol Nutr Food Res.* févr 2005;49(2):175-94.
12. El-Mostafa K, El Kharrassi Y, Badreddine A, Andreoletti P, Vamecq J, El Kebbj MS, et al. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Mol Basel Switz.* 17 sept 2014;19(9):14879-901.
13. Bhira, O. Potentialités thérapeutiques d'*Opuntia Ficus indica* au Maroc et en Tunisie[Thèse]. Maroc :Université Mohammed 5 ;2012.
14. Feugang JM, Konarski P, Zou D, Stintzing FC, Zou C. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosci J Virtual Libr.* 1 sept 2006;11:2574-89.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

15. Adjerdoud N, Dahmoune F, Merzouk B, Leclerc JP, Madani K. Improvement of electrocoagulation-electroflotation treatment of effluent by addition of *Opuntia ficus indica* pad juice. Sep Purif Technol. 2 mars 2015.
16. Achat S. Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques [Thèse]. Bejaïa : Université Abderrahmane Mira ; 2013.
17. Laouini S E. Etude phytochimique et activité biologique d'extrait des feuilles de phœnix d'actylifera.L dans la région du sud d'ALGERIE [Thèse]. Biskra : université Mohamed khider ; 2014.
18. Nkhili E. Polyphénols de l'alimentation : extraction, interaction avec Les Ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir Antioxydant [Thèse]. Maroc : Université Cadi Ayyad - Faculté des Sciences Semlalia – Marrakech ; 2009 .
19. Boubekri C . Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques [Thèse]. Biskra : Université Mohamed Khider ; 2014.
20. Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: « *Gnidia involucrata* » Steud. ex A. Rich - RERO DOC [Internet]. [cité févr 2022]. Disponible sur: <http://doc.rero.ch/record/8595>
21. Bouchouka E. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes [Thèse]. ANNABA : Université Badji Mokhtar ; 2016.
22. BELYAGOUBI Née BENHAMMOU N. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien [Thèse]. Tlemcen : Université Aboubakr Belkaid ; 2011.
23. Salunkhe DK, Chavan JK, Kadam SS. Dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton Fla: CRC Press; 1990. 200 p.
24. Gee JM, DuPont MS, Rhodes MJ, Johnson IT. Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. Free Radic Biol Med. 1 juill 1998;25(1):19-25.
25. Wiseman H. The bioavailability of non-nutrient plant factors: dietary flavonoids and phyto-oestrogens. Proc Nutr Soc. févr 1999;58(1):139-46.
26. Polyphenols: food sources and bioavailability | The American Journal of Clinical Nutrition | Oxford Academic [Internet]. [cité 11 sept 2022]. Disponible sur: <https://academic.oup.com/ajcn/article/79/5/727/4690182?login=false>
27. Crespy V, Morand C, Besson C, Cotel N, Vézina H, Demigné C, et al. The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of the compound. Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol. juin 2003;284(6):G980-8.
28. François M N . Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques [Thèse]. France : Université Paul Verlaine – Metz ; 2010.
29. Loïc Lenoir , Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat [Thèse]. France : Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand ; 2011.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

30. Ghedira K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*. 1 août 2005;3(4):162 - 9.
31. Gremaud S. Analyse des composés phénoliques du bois de mélèze [Internet]. France. Institut Universitaire de Technologie d'Orléans (IUT Orléans), FRA.; 2015 [cité 11 sept 2022]. p. 52 p. Disponible sur: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01269319>
32. Abhatoo : Le cactus opuntia, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc [Internet]. [cité févr 2022]. Disponible sur: <http://www.abhatoo.net.ma/maalama-textuelle/developpement-durable/economie-durable/agriculture/pratiques-agricoles/protection-des-recoltes/le-cactus-opuntia-une-espece-fruitiere-et-fourragere-pour-une-agriculture-durable-au-maroc>
33. Self R, Belton PS. *Extraction of Organic Analytes from Foods: A Manual of Methods*. Cambridge, U.K: Royal Society of Chemistry; 2005. 410 p.
34. La chimie des huiles essentielles - Xavier Fernandez , Farid Chemat - Librairie Eyrolles [Internet]. [cité Mars 2022]. Disponible sur: <https://www.eyrolles.com/Sciences/Livre/la-chimie-des-huiles-essentielles-9782311010282/>
35. BEN AMOR B .Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction des principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée [Thèse]. France : Université de la rochelle ; 2008.
36. Zaoui F, Thèse de magister. Extraction liquide-solide de Zn(II) en milieu acétate par des résines amberlite XAD imprégnée d'extractant organophosphoré, Tlemcen-Algérie, 2002
37. Camel V. Solid Phase Extraction of Trace Elements. *Spectrochim Acta*. 30 juin 2003;58:1177-233.
38. PENCHEV PI .Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions Toulouse : Université de toulouse[Thèse]. ;2010.
39. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng*. 1 janv 2013;117(4):426-36.
40. Aboudaou M. Application de technique innovante de type micro-onde à l'extraction des huiles essentielles des citrus d'Algérie [Thèse]. Oued Smar : Ecole nationale supérieure agronomique ;2016.
41. BOUSBIA N. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires[Thèse].El Harrach – Alger : Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique ;2011.
42. M'HIRI. N. Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone[Thèse]. Tunis : Université de Lorraine ;2015
43. Mottaleb MA, Sarker SD. Accelerated solvent extraction for natural products isolation. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2012;864:75-87.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

44. ZAGHDOUDI K .Optimisation de l'extraction des caroténoïdes à partir du persimmon (*Diospyros kaki* L.), de l'abricot (*Prunus armeniaca* L.) et de la pêche (*Prunus persica* L.) : étude photophysique en vue d'une application en thérapie photodynamique (PDT) [Thèse]. Tunis : Université de Lorraine ;2015.
45. Roux E. Quelques notions de base de statistiques appliquées à la biologie. :77.
46. Pillet M. Les plans d'expériences par la méthode TAGUCHI. :254.
47. Dagnelie P. La planification des expériences : choix des traitements et dispositif expérimental. :26.
48. GillonF.Modélisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur A commutation[thèse].France : université de Lille ;1997.
49. GroupyJ.Les plans d'expériences.3eme édition.2006.
50. Vivier S. Stratégies d'optimisation par la méthode des Plans d'Expériences, et Application aux dispositifs électrotechniques modélisés par Eléments Finis. :310. Référence annexes :
51. Almeida AM, Castel-Branco MM, Falcão AC. Linear regression for calibration lines revisited: weighting schemes for bioanalytical methods. *J Chromatogr B AnalytTechnolBiomed Life Sci.* 15 juill 2002;774(2):215-22(etalonnage partie pratique)
52. ShopUi [Internet]. [cité 11 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.morebooks.de/shop-ui/shop/product/978-613-1-59059-7>
53. Spectrophotomètre - Présentation [Internet]. *Techno-Science.net.* [cité juin 2022]. Disponible sur: <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Spectrophotometre.html>
54. ANALYSE CHIMIQUE Méthodes et techniques instrumentales modernes 6 e édition Francis Rouessac Annick Rouessac avec la collaboration de Daniel Cruché | Benabbes Radja - Academia.edu [Internet]. [cité juin 2022].
55. Kapp RW. Clarke'sAnalysis of Drugs and Poisons, 3rd editionEdited by Anthony C. Moffat, M. David Osselton, and Brian Widdop Publisher: Pharmaceutical Press: London. 2004. ISBN: 0-853-69473-7. Volume I: 480 pages; Volume II: 1176 pages. Price: \$545.00. *Int J Toxicol.* 1 janv 2006;25(1):81-2.
56. Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie de Rouen [Internet]. [cité 11 sept 2022]. Disponible sur: <https://biotech.spip.ac-rouen.fr/>
57. Jean LC. Cours chromatographie liquide, Université Montpellier (2001), p4
58. Djellouli O. quantification de l'incerititude de mesures des dosages des micronutriments par des méthodes spectroscopiques et chromaographiques[thèse]. Telmcen : Université Abou Beker Blkaid ;2013.
59. Thierry B - Professeur agrégé – Département de Chimie,Université de La Réunion, (2001), p36-37
60. Introduction to Modern Liquid Chromatography, 3rd Edition | Wiley [Internet]. Wiley.com. [cité juillet 2022].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

61. Hindawi. Development and Validation of an HPLC Method for Determination of Antidiabetic Drug Alogliptin Benzoate in Bulk and Tablets [Internet]. [cité avril 2022]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/jamc/2018/1902510/>
62. Skoog DA, West DM. Chimie analytique. De Boeck Supérieur; 2015. 1174 p.
63. Weston A, Brown PR. HPLC and CE: Principles and Practice. Academic Press; 1997. 280 p.
64. Jain DS. STABILITY INDICATING HPLC METHOD DEVELOPMENT: A REVIEW. Disponible sur: https://www.academia.edu/33451053/STABILITY_INDICATING_HPLC_METHOD_DEVELOPMENT_A_REVIEW
65. Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Biosci Biotechnol Biochem. juin 1998;62(6):1201-4.
66. Validation of Analytical Methods | IntechOpen [Internet]. [cité juil 2022]. Disponible sur: <https://www.intechopen.com/chapters/57909>
67. J. Degraeve, F. Berthou, Méthodes chromatographiques, 2^{ème} édition (1986), p392 (Opuntiaspp). A review on their chemistry,

ANNEXES

La spectrométrie UV-Visible est classée parmi les méthodes basées sur les phénomènes d'absorption utilisant des longueurs d'onde du domaine d'ultraviolet et le visible. [52]

1. Définition:

Un spectrophotomètre UV-visible est un appareil qui permet de mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde ou une marge spectrale bien précise. [53]

2. Structure d'un spectromètre:

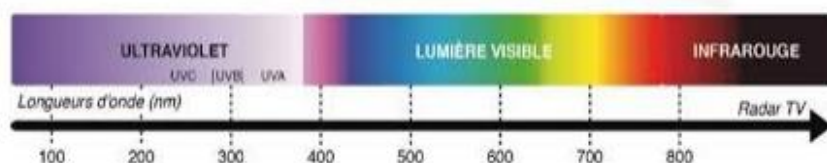
Un spectrophotomètre est constitué de plusieurs parties :

- **Source lumineuse** : Lampes à hydrogène ou deutérium qui est responsable des radiations lumineuses dans UV.
Une lampe à incandescence à Tungstène, elle fournit des radiations lumineuses dans le visible.
- **Le monochromateur** : il sélectionne la longueur d'onde d'intérêt et d'éliminer les non désiré.
- **La cuve** : un compartiment transparent dont on place la solution échantillon, il existe des cuves en verre pour le visible et en quartz pour UV.
- **Un détecteur** : consiste à convertir la lumière en un signal électrique.
- **Un dispositif d'affichage numérique** : permet d'indiquer l'absorbance ou la transmittance. [53]

3. Domaine UV-Visible: livre

UV-Visible s'étend de 200 nm à 800 nm [53]

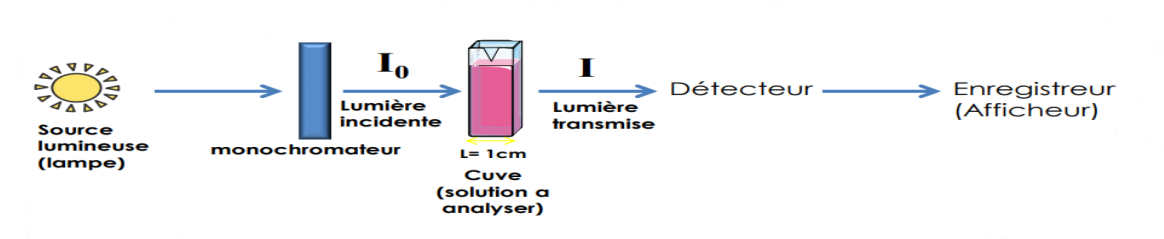
- Visible : 400 nm à 800 nm
- Proche UV : 200nm à 400 nm
- UV lointain : < 200 nm



4. Principe:

Une mesure en spectrophotométrie est basée sur la comparaison du flux énergétique de deux rayons lumineux : un rayon monochromatique d'une intensité I_0 traversant une cuve de référence, appelée communément le blanc, contenant uniquement le même solvant que la solution à analyser, et donc a priori transparente vis-à-vis du rayon lumineux, le même rayon traversant une cuve identique contenant la solution à analyser. [52]

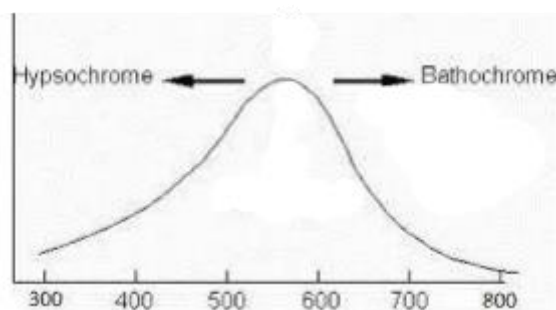
Une partie de la lumière est absorbée par la solution et le reste est transmis d'une intensité I , de sorte que $I < I_0$. [53]



5. Effets dus aux solvants:

La polarité diffère d'un solvant à un autre. Une modification de la répartition des charges de substance en solution suite à une transition électronique, il est évident que la position et l'intensité des bandes d'absorption vont varier quelque peu avec la nature du solvant employé. On distingue deux types d'effets[53] :

- **Effet hypsochrome ou bleu shift:** diminution de $\lambda_{\max}$
- **Effet bathochrome ou red shift :** augmentation de $\lambda_{\max}$



6. Effets du pH:

Le pH du milieu dans lequel est dissous l'analyte peut avoir un effet important sur le spectre. Parmi les composés qui manifestent cet effet de manière spectaculaire, on trouve les indicateurs colorés dont le changement de couleur est mis à profit au cours de dosages acidimétriques.[53]

7. Application de la spectroscopie UV-Visible:

D'une manière générale elle apporte peu d'informations structurales, mais elle a en revanche beaucoup d'applications en analyse quantitative.

L'absorbance est proportionnelle à la concentration d'un composé dans une solution (la croissance en fonction de la concentration donc une croissance linéaire).

Les calculs de concentration qui découlent de la loi de Beer-Lambert ont donné naissance à la méthode connue sous le terme général de colorimétrie.

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot L \cdot C$$

A_{λ} : Absorbance à une longueur d'onde λ

L : Trajet optique (cm)

C : Concentration de la solution

ϵ_{λ} : Coefficient d'absorption molaire ($M^{-1}cm^{-1}$) de la substance à une longueur d'onde λ .[53]

8. Validité de la loi de Beer-Lambert:

- La lumière utilisée doit être monochromatique.
- Les concentrations doivent être faibles.
- La solution ne doit être ni fluorescente ni hétérogène.
- Le soluté ne doit pas donner des transformations photochimiques.
- Le soluté ne doit pas donner des associations variables avec le solvant.[52]

1. Définition:

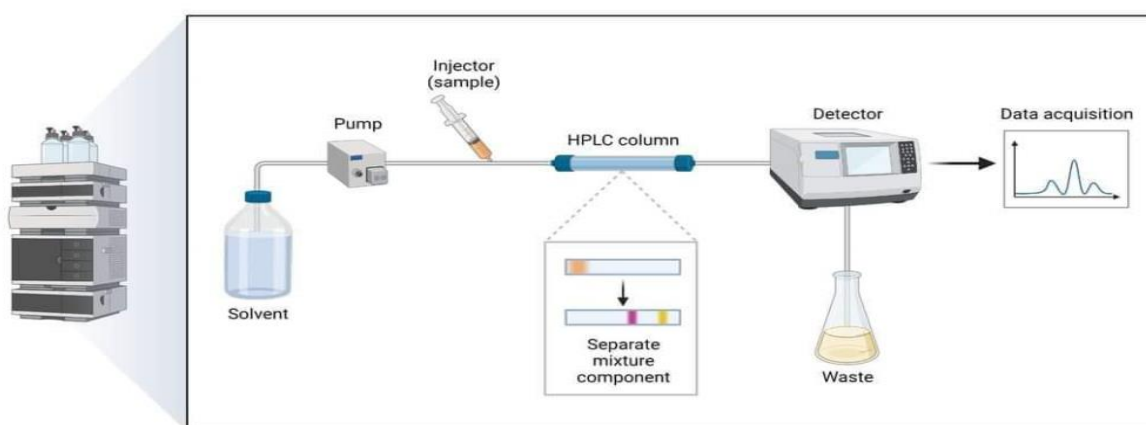
La chromatographie liquide haute performance, CLHP – HPLC en anglais, c'est une technique analytique séparative utilisée en analyse quantitative, qualitative des composés solubles dans un solvant liquide, principalement employée dans le domaine de la chimie analytique comme outil scientifique majeur [54]

2.Principe :

Les composés à analyser (solutés) sont mis en solution et entraînés par une phase mobile liquide (éluant) tout au long d'une phase stationnaire pour être séparés grâce à une répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire suivant leur affinité entre ces deux phases.

En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont représentés par des pics. les pics enregistrés sont appelé chromatogramme.[55][56]

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)



3.Appareillage :

Une installation de CLHP comporte divers modules spécialisés, qui sont reliés entre eux par l'intermédiaire de canalisations de très faible diamètre interne (0,1 mm) pour assurer la circulation de la phase mobile.[53]

1. la pompe :

Toute installation de CLHP comporte au moins une pompe pour forcer le passage de la phase mobile à travers la colonne dont le remplissage est très compact.

Il en résulte une pression importante au niveau de l'injecteur qui dépend de : [53] [58]

1. débit de la phase mobile
2. viscosité du modificateur organique
3. taille des grains de la phase stationnaire
4. géométrie de la colonne.

Elle permet de travailler soit :

En mode isocratique : pour lequel la composition de la phase mobile est fixe tout au long de l'analyse.

En mode gradient : pour lequel une variation programmable des constituants du mélange d'éluant est réalisée.[58]

2. Le réservoir de la phase mobile

Il contient la phase mobile en quantité suffisante.

Plusieurs flacons d'éluant (solvant de polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'élution (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe qui réalise le mélange demandé [59].

3. injecteur

L'injection de l'échantillon se fait avec deux manières :

3.1. Manuelle : l'injecteur comporte une vanne à plusieurs voies montée sur le parcours de la phase mobile, juste avant la colonne. L'échantillon à analyser est introduit avec une micro-seringue dans un petit volume tubulaire appelé boucle ; l'échantillon est ainsi inséré avec un flux de phase mobile.

3.2. Automatique : l'injection se fait automatiquement, l'injecteur utilisé comporte une vanne à boucle d'échantillonnage d'une capacité fixe, cette boucle permet d'introduire l'échantillon sans modifier la pression dans la colonne [59] [60].

4.La colonne:

La colonne est l'élément majeur de la chaîne HPLC, se présente comme un tube, le plus souvent en acier, dont la longueur et le diamètre présentent des différences selon les modèles.

La colonne est souvent précédée d'une précolonne, remplie de la même phase stationnaire, ce qui sert à retenir certaines impuretés et préserver les performances de la colonne [53].

5. La phase stationnaire:

La recherche d'une bonne résolution chromatographique et par voie de conséquence d'une efficacité élevée, a conduit à la création de phases stationnaires de nature et de structures variées. Pour raccourcir les temps d'analyse, il faut tenter d'accélérer dans la colonne les transferts entre les phases mobile et fixe.[53]

.

5.1.La phase stationnaire normale:

La phase normale est constituée d'un gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. [61].

5.2.La phase stationnaire inversée:

Bien qu'ayant une capacité d'adsorption élevée, le gel de silice décrit précédemment n'est plus utilisé tel quel en chromatographie analytique.[53].

Pour diminuer sa polarité jugée excessive dans de nombreux cas on le rend essentiellement Hydrophobe, la phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant .[61].

6. La phase mobile:

La phase mobile ou éluant est un liquide qui entraîne les solutés à travers la colonne

Le choix d'éluant est basé sur les interactions de la Phase mobile Vis-à-vis au produit , la phase stationnaire, l'appareillage d'analyse [62].

7. Détecteur:

Le détecteur est relié à la sortie de la colonne.

Les solutés en sortie de la colonne chromatographique sont en solution très diluée dans une phase mobile dont la nature et la composition varient d'une analyse à une autre, de ce fait un détecteur est nécessaire puisqu'il permet de suivre en continu la séparation et de mesurer la concentration des solutés [63].

Le choix d'un détecteur dépend à la fois des caractéristiques physiques des composés à séparer, des conditions opératoires et des propriétés optiques des composés.

Il existe différents types de détecteurs :

- Détecteur UV-visible
- Détecteurs spectrophotométriques
- Détecteur spectrofluorimétrique
- Détecteur réfractométrique
- Détecteur électrochimique[64].

8. Enregistreur:

L'enregistreur reçoit un signal électrique proportionnel à la concentration de l'analyte qui traverse le détecteur. Ce signal est traité, amplifié puis utilisé pour tracer le chromatogramme[65].

9. Avantages et limites:

Avantages:

- Séparés efficacement les molécules de structure similaire.
- Résultats quantitatifs précis et hautement reproductibles.
- Applicabilité à divers analytes.
- Haute sensibilité.
- Essais hautement reproductibles.
- UPLC : analyse plus rapide avec une résolution améliorée.[66]

Limites:

- Les composés doivent être solubles dans les solvants courants tels que l'eau, les alcools et l'acétonitrile.
- La pression de la pompe est limitée à 40 MPa (HPLC) et 100 MPa (UPLC).
- Impossible de séparer les ions inorganiques.
- Absence de détecteur universel idéal.
- Les solvants apolaire agressifs ne sont pas compatibles avec l'instrument. [67]

Annexe I : Questionnaire pour enquête sur le figuier de barbarie :

Profil de l'informateur:

Age : **A1** < 20 - **A2** [20-30] **A3** [30-40] **A4** [40-50] **A5** [50-60] **A6** > 60

Sexe : ☐ Masculin ☐ Féminin

Niveau académique: ☐ Analphabète ☐ Primaire ☐ Moyen ☐ Secondaire

☐ Universitaire

Profession :

Lieu / Résidence :

Ville d'origine :

Les données sur le figuier de barbarie et son utilisation:

1. Avez-vous déjà utilisé cette plante médicinale?

☐ Oui ☐ Non

2. Quand est-ce que vous l'utilisez ?

☐ Avant d'avoir recours à la médecine conventionnelle.

☐ Après échec de la médecine conventionnelle.

☐ En complément de celle-ci.

3. Pourquoi vous utilisez cette plante?

☐ Elles sont sans danger.

☐ Elles sont plus efficaces.

☐ Habitude.

☐ Autres :

4. Par quel biais connaissez-vous que cette plante ?

☐ Héritage familial / expérience des autres

☐ Herboriste

☐ Pharmacien

☐ Culture générale

5. Quel est l'intérêt cette plante ?

<u>N°</u>	<u>Nom scientifique</u>	<u>Nom vernaculaire</u>	<u>Maladie traitée</u>	<u>Provenance</u>	<u>Type de plante</u>	<u>Partie utilisée Et état</u>	<u>Période de récolte</u>	<u>préparation</u>	<u>Mode d'administration</u>	<u>durée</u>	<u>Résultat</u>

- Associations possibles :.....

.....

- Toxicité :

.....

Maladie traitée : 1- Affection métaboliques (Diabète) 2-Affections cardio-vasculaires (HTA)

3-Affections dermatologiques(cicatrisation) 4- Affections Ostéo-articulaires

Provenance : 1- Collectée 2-Cultivée 3-Horbisterie 4-Officine

Type de plante : 1- Spontanée 2- Cultivée 3- Importée 4- Inconnu

Partie utilisée : 1-Racine 2- Tige 3- Feuille 4-
Fleure/Inflorescence 5- Fruit 6- Graine
7- Plante entière 8- Autres (préciser)

Etat : 1- Sèche 2-Fraiche

Période de floraison : 1-Eté 2- Automne 3- Hiver 4- Printemps 5- Toute l'année

Période de récolte : 1- Eté 2- Automne 3- Hiver 4- Printemps 5- Toute l'année

Mode et durée de conservation : 1-frais 2-sèche

Préparation : 1- Infusion 2- Décoction 3- Macération 4- Fumigation
5- Jus 6- Cataplasme 7- Compresse 8- mélange de tisane
9- poudre 10-Autre (préciser)

Mode d'administration : 1- Oral 2- Application locale 3- Inhalation
4- Fumigation 5- Rinçage 6- Autre (Préciser)

Résultat : 1- Guérison 2- Amélioration 3- Stabilisation 4-Inefficace

Méthodologie d'enquête:**1.1.Enquête:**

Notre enquête s'agit d'une étude ethnobotanique de type statistique descriptive quantitative et qualitative menée auprès des utilisateurs des plantes médicinales

Elle consiste à recenser les informations liées à l'usage populaire traditionnel et actuel

De figuier de barbarie comme remède primaire quotidien

Elle a été réalisée grâce à l'utilisation d'un questionnaire (**annexe 1**)

Les utilisateurs ont été interrogés soit en langue française, arabe ou kabyle.

1.2.Période d'étude

L'enquête s'est déroulée au cours de la période allant de Décembre 2021 jusqu'au Mars 2022.

1.2.Population d'étude :

L'enquête sur le terrain a été réalisée auprès des informateurs considérés comme les meilleurs connaisseurs de la flore médicinale, ainsi auprès des pharmaciens d'officine, également auprès un expert en pharmacognosie et auprès de la population rurale.

Age : ≥ 20 ans.

Wilayas sondées : BOUMERDES, TIZI OUZOU, ALGER, BOUIRA, ORAN, SEKIKDA et MOSTGHANEM.

Taille de la polpulation: 77 personnes.

Personnes interrogées: Hommes, femmes, population locale, tradipraticiens, pharmaciens

Les données démographiques concernant la population d'études sont récapitulées dans le tableau ci-dessous :

Tableau : Données démographiques de l'enquête réalisée

Age				
[20-30]	[30-40]	[40-50]	[50-60]	>60
59	4	7	4	3

Sexe	
Femme	Homme
61	16

Wilayas						
Boumerdes	Tizi-Ouzou	Alger	Bouira	Oran	Sekikda	Mostaghanem
31	24	13	5	2	1	1

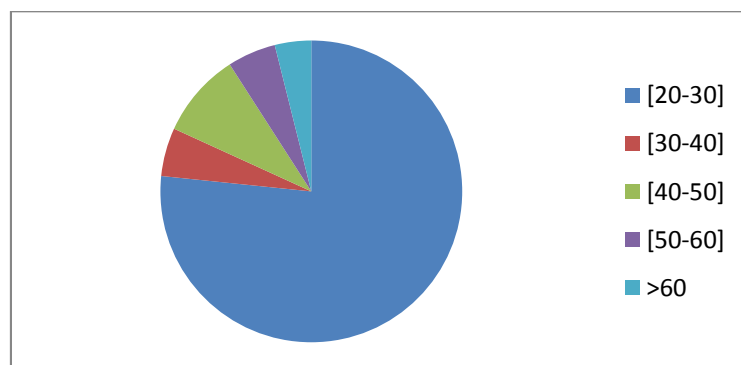
2.5 Analyse des données

Après la clôture de l'enquête ethnobotanique, les questionnaires sont traités un par un, les données ont été analysées (volet par volet, regroupées, dénombrées, converties en pourcentages et représentées en graphes) avec l'Excel (Microsoft Office).

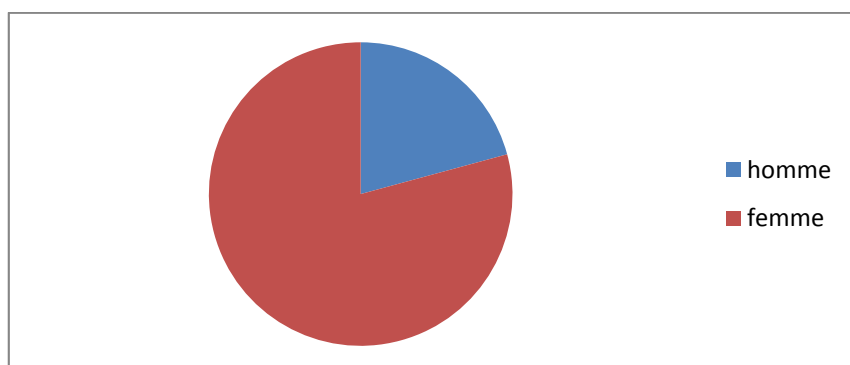
Résultats de l'enquête:**1. Description de la population d'étude****1.1. Âge**

Le diagramme ci-dessous représente la répartition des 77 personnes interviewées selon l'âge.

Age	stat	P%
[20-30]	59	76,62%
[30-40]	4	5,19%
[40-50]	7	9,09%
[50-60]	4	5,19%
>60	3	3,90%
totale	77	100,00%

**1.2. Sexe:**

Sexe	Stat	P%
Féminin	61	79.22%
Masculin	16	20.77%
total	77	100,00%

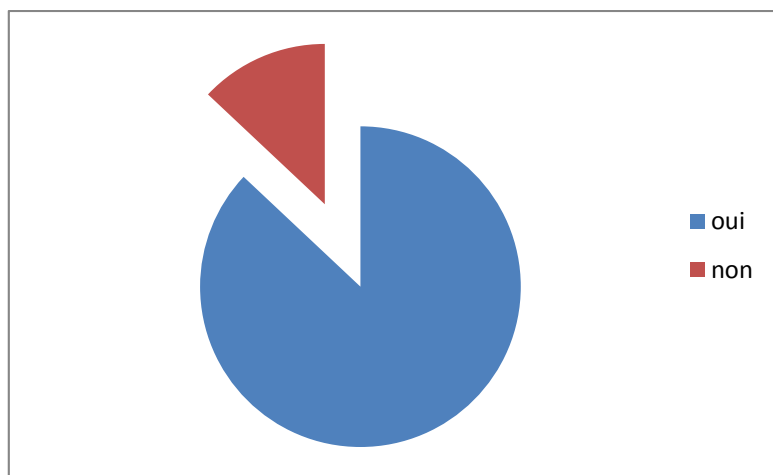


1. Utilisation de figuier de barbarie par la population d'étude :

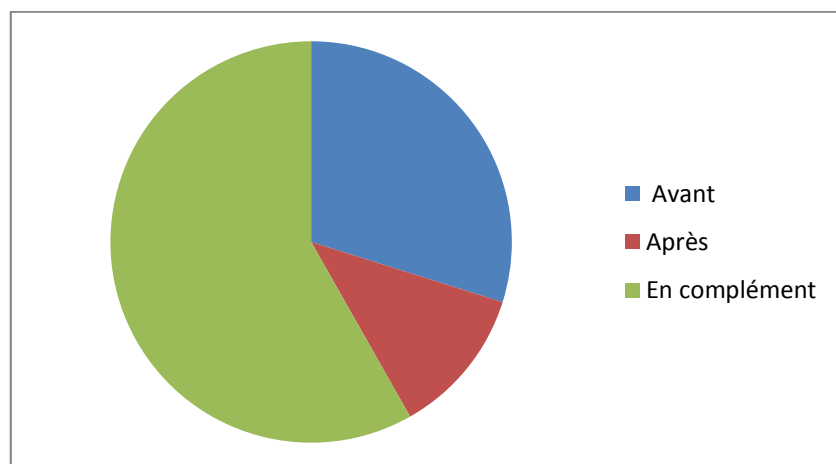
Le tableau et le diagramme ci-après représentent les résultats obtenus.

Tableau 10 : taux d'utilisation de figuier de barbarie chez la population étudié

Utilisation	Stat	P%
OUI	67	87,01%
NON	10	12,99%
total	77	100,00%

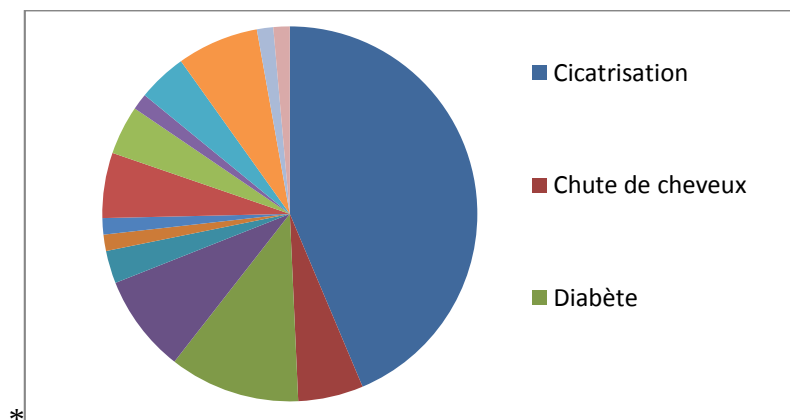
**2. Recours au figuier de barbarie comme traitement :**

Quand ?	Stat	P%
Avant	20	29,85%
Après	8	11,94%
En complément	39	58,21%
TOTAL	67	100,00%



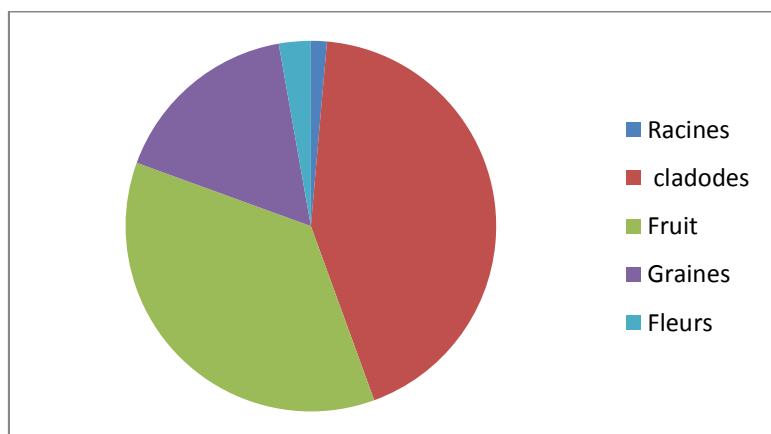
3. Les maladies traitées :

Maladie	Stat	P%
Cicatrisation	31	43,66%
Chute de cheveux	4	5,63%
Diabète	8	11,27%
HTA	6	8,45%
Affections digestives	2	2,82%
Affections ostéo-articulaires	1	1,41%
Cancer du colon	1	1,41%
Constipation / Régulation du transit	4	5,63%
Hémorroïdes	3	4,23%
Contre les rides	1	1,41%
Consommation	3	4,23%
Ulcère gastrique	5	7,04%
Dysthyroïdie	1	1,41%
VERRUES	1	1,41%
TOTAL	71	100,00%



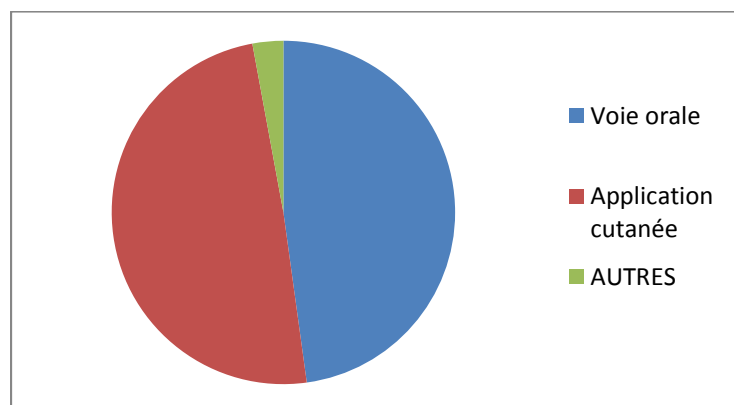
3. la partie utilisée :

La partie	Stat	P%
Racines	1	1,39%
cladodes	31	43,06%
Fruit	26	36,11%
Graines	12	16,67%
Fleurs	2	2,78%
TOTAL	72	100,00%



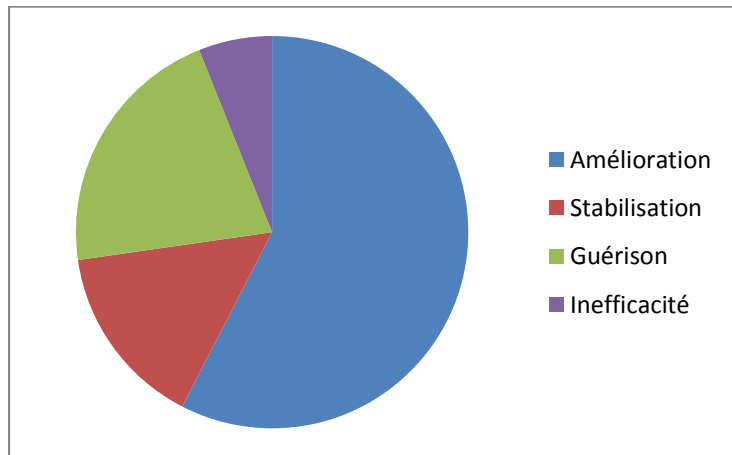
4. Mode d'administration :

Mode d'administration	Stat	P%
Voie orale	33	47,83%
Application cutanée	34	49,28%
AUTRES	2	2,90%
TOTAL	69	100,00%



5. Résultats :

Résultat	Stat	P%
Amélioration	38	57,58%
Stabilisation	10	15,15%
Guérison	14	21,21%
Inefficacité	4	6,06%
TOTAL	66	100,00%



FICHE TECHNIQUE

Protocole expérimental

Etude quantitative

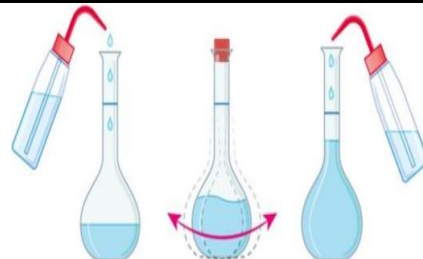
1

Peser 100 mg de poudre de chaque organe de figuier de barbarie par une balance analytique de précision et transférer la poudre pesée dans un erlenmeyer.



2

Ajouter un volume de 20ml de solvant d'extraction (ED, Acetonitrile). Agiter au vortex tout en variant de la durée d'extraction (15, 30min).



4

Prélever 500 μ L d'extrait

Ajouter 2ml d'ED+1000 μ L de réactif de folin-ciocalteau dilué à 1/10 incuber 3min puis ajouter 5 ml de carbonate disodique



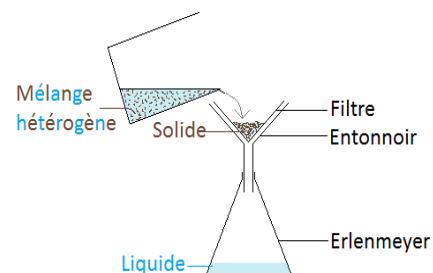
5

Lecture au spectrophotomètre UV-visible après 30min d'incubation à l'abri de la lumière à 760nm



3

Filtration du mélange



FICHE TECHNIQUE

Protocole expérimental

Etude qualitative

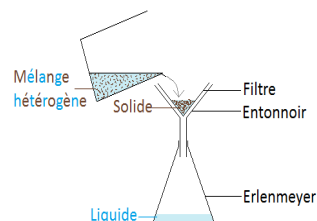
1

Extraction des polyphénols à partir des poudres de différents organes de figuier barbarie par extraction solide-liquide sous agitation dans les conditions optimales (solvant, temps d'agitation et température optimale)



2

Filtrer la solution d'extraction



3

Centrifuger

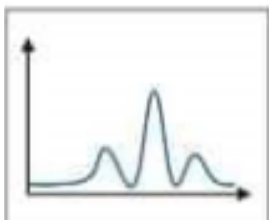
4

Remplir les vials



5

Injecter



Abstract:

In recent decades, there has been much interest in the potential health benefits of plant polyphenols such as those found in the prickly FIG tree *Opuntia ficus-indica* as antioxidants.

In our study we are interested in optimizing the process of solid-liquid extraction of the polyphenols contained in the various parts (rackets, flowers, bark and seeds) of prickly FIG harvested from the BOUMERDES region using a complete factorial plan. This study was carried out by varying the three levels of the three factors chosen: temperature, extraction solvent and stirring time.

After experimentation, all these factors were considered to influence the extraction yield and subsequently we found the following optimal extraction conditions: Temperature of 30°C, an extraction time = 45min and the extraction solvent differs from one organ to another who seacetonitrile is the optimal solvent for the extraction of polyphenols in bark allowed, flowers and seeds and distilled water for the cladodes us to obtain a maximum yield equal to...%.

The results obtained for the quantitative analysis of the phenolic composition of the different parts using the colorimetric test of Folin Ciocalteu, confirm and show that the seeds of the fruits are the parts richer in polyphenols.

Qualitative analysis by HPLC/UV-VISIBLE of the species *Opuntia ficus-indica* identified: the caffeine, cinnamic and coumaric acids in the various organs of the prickly FIG tree.

Keywords: experimental designs, Folin Ciocalteu, UV-Visible spectrophotometry, HPLC, polyphenols, *Opuntia ficus-indica*.

ملخص :

في العقود الأخيرة، أدت الفوائد المحتملة للنباتات متعددة الفينولات مثل تلك الموجودة في التين الشوكي كمضادات للأكسدة إلى توليد الكثير من الاهتمام الصحي.

في دراستنا، كنا مهتمين بتحسين عملية استخراج المواد الصلبة السائلة من البولي فينولات الموجودة في مختلف الأعضاء (الألواح، الأزهار، اللحاء والبذور) من التين الشوكي المحسولة من منطقة بومرداس باستخدام خطة عملية كاملة. أجريت هذه الدراسة بمستويين مختلفين من العوامل الثلاثة المختارة: درجة الحرارة ومذيب الاستخراج ووقت الاستخراج.

بعد التجربة، اعتبرت جميع هذه العوامل أن لها تأثير على ناتج الاستخراج، ووجدنا بعد ذلك شروط الاستخراج المثلى التالية: درجة الحرارة 40 درجة مئوية، وقت الاستخراج = 45 دقيقة.

وتؤكد نتائج التحليل الكمي للتركيب الفينولي للأجزاء المختلفة باستخدام اختبار قياس الألوان فولينسيو كالتو، وتبين أن بذور الثمار هي الأجزاء الأغنى في البولي فينول.

التحليل النوعي بواسطة

HPLC/UV-VISIBLE التي حددت: حمض الكافيك، السيناميك و الكوماريك في ألواح و لحاء التين الشوكي اما بالنسبة للبذور فحمض السيناميك هو الوحيد الذي تم تحديده .
الكلمات الرئيسية: التصاميم التجريبية، الفينولات، التين الشوكي.

Résumé :

Au cours des dernières décennies, les bienfaits potentiels pour la santé des polyphénols végétaux comme ceux contenus dans le figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica* en tant qu'antioxydants ont suscité beaucoup d'intérêt.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à optimiser le procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols contenus dans les différentes parties (raquettes, fleurs, écorces et graines) de figuier de barbarie récolté de la région de BOUMERDES en utilisant un plan factoriel complet. Cette étude a été réalisée en faisant varier les deux niveaux des trois facteurs choisis : la température, le solvant d'extraction et la durée d'agitation.

Après expérimentation, tous ces facteurs ont été jugés influents sur le rendement d'extraction et par la suite, nous avons trouvé que les conditions d'extraction optimales suivant : température de 40°C, une durée d'extraction = 45min et le solvant d'extraction diffère d'un organe à un autre dont l'acetonitrile est le solvant optimale pour l'extraction des polyphénols dans les écorces, les fleurs et les graines et l'eau distillée pour les raquettes nous permettait d'obtenir un rendement maximal égale à 29,26%.

Les résultats obtenus pour l'analyse quantitative de la composition phénolique des différentes parties en utilisant le test colorimétrique de Folin Ciocalteu, confirment et montrent que les graines sont les parties les plus riches en polyphénols.

L'analyse qualitative par HPLC/UV-VISIBLE des différents extraits de l'espèce *Opuntia ficus-indica* a permis d'identifier : les acides caféique, cinnamique et coumarique dans les écorces et les raquettes quant aux grains uniquement l'acide cinnamique qui a été identifié du figuier de barbarie.

Mots clés : plans d'expérience, Folin Ciocalteu, spectrophotométrie UV-Visible, HPLC, polyphénols, *Opuntia ficus-indica*

Agsul :

Di tsutiwin-agi tineggura, tinufa n " polyphenols végétaux" i nettafdegukermus, yesεaatas n tixxutert i tdawsa n wemdan

Di tezrawt-nney, neεreɗamek ara nessaleyallel n beṭṭu " untim/ aḥluli" n polyphenolsyellan Di kra n yegmanen : iḥder n ukermus, ijeḡḡigen, isennan d yebruyenyellandegkermus n temnaɗt n Bumerdas, s useqdec n uyawas factoriel amatan

Tazrawt-agi tettwaxdem s usemxalaf n sin yeswirengerkraɗyemganyettwafern

Seldtirit, nufa-d dakkenakkimganseantazrirt yefbeṭṭu

Syinnufa-d dakkentiweltin-ines i iwulmen d tigi : tazyelt 40° tanzagt n beṭṭu 45 n tesdatin, solvant yemgaraddegigmanyerwayed

Imi l'acétonitrine d le solvant igwulmen i beṭṭu n polyphenolsDegiḥder, ijeḡḡigen d yebruyen. Ma d l'eau distillée tefka-d agemmuɗyemgaraden : 29,26%

Igemmuɗen id-nufa s useqdec n tesleɗt quantitative n usuddes phénolique n meṛṛayeḥricen s tallalt n le test colorimétrique n Folin ciocalteu mmalen-d d akkenigruyen n yigumma d aḥricig-seanaatas n " polyphenols "

