

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin de d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème

**Extraction et évaluation de quelques activités biologiques de
différents constituants de cladodes du figuier de barbarie
« Polyphénols et polymères ».**

Présenté par :

- **ABDI Rania**
- **ALILECHE Sid Ali**
- **KADEM Lyes**

Membre du jury :

Promotrice : DERMECHE S. Maitre de conférences « B » UMMTO
Présidente : ASMANI K. Maitre de conférences « A » UMMTO
Examineur : TITOUCHE Y. Maitre de conférences « A » UMMTO

Année 2021-2022

Remerciement

En premier lieu, nous remercions le bon Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience afin d'accomplir ce modeste travail qui a été réalisé au sein du Laboratoire de Recherche de Biochimie Analytique et biotechnologie, Faculté des Sciences Biologique et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de TIZI- OUZOU.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à notre promotrice Madame DERMECHE Samia, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. La qualité de ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé, nous ont permis de mener notre travail à bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury Monsieur TITOUCHE Y. et Madame ASMANI K., pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements pour Monsieur TITOUCHE Y. qui nous a beaucoup soutenus lors des manipulations au laboratoire.

Nos remerciements les plus sincères à tous nos enseignants du Département de Biochimie-Microbiologie (BM) de l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou pour leurs compétences et expertises.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

*Il me tient à cœur de dédier ce modeste travail à
ceux qui m'ont donné la vie source de mon
courage et mon inspiration*

A mon père

A ma mère

A mes frères Kamel et Abdenour

*A la mémoire de ma grand-mère que dieu
l'accueille dans son vaste paradis*

A toute la famille ALILECHE

A mon trinôme Lyes et Rania

*A toutes les personnes que je porte dans mon
cœur et qui se reconnaîtront car elles en font
autant.*

*Je vous dédie ce travail en guise de
reconnaissance car vous m'êtes si chers que je ne
peux que vous offrir ce que j'ai appris de mieux
dans ma vie*

SID ALI...

Dédicace

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin
de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*À mes chers parents qui sont toujours là
pour m'encourager,*

*qui, grâce à leurs conseils, soutien
et amour je suis arrivée là aujourd'hui,*

À ma chère sœur Thiziri

À ma chère tante Nadia

*A la mémoire de mes grandes mères,
mes oncles Djamel et Cherif.*

A mes cousins

A mon âme sœur « Anis »

À mon trinôme Sid Ali et Lyes

À mes professeurs

À vous...

RANIA...

Dédicace

*Je dédie cette œuvre
À la mémoire de mon père,
À ma très chère mère
Et mes chères sœurs, l'essence de ma vie,
mes anges gardiens,
Celles qui me permettent d'avancer et de
réussir;
Que Dieu les gardes près de moi, ancré
dans mon cœur;
À tous mes amis,
À tous ceux que j'aime,
À mon trinôme Sid Ali et Rania*

LYES...

Résumé

Le cladode du figuier de barbarie est largement consommé dans certains pays, compte tenu de sa richesse en composants bioactifs qui présentent divers effets bénéfiques pour la santé.

L'objectif de la présente étude est l'analyse et l'évaluation des propriétés et activités biologiques à savoir l'activité antioxydante, antimicrobienne et antifongique de certains constituants de cladodes de l'*Opuntia ficus indica* à différents stades de maturité provenant de deux régions : Bouhinoune et Larbaa Nath Irathen. Le contenu en polyphénols totaux est estimé par la méthode de Folin Ciocalteu. D'après les résultats, la teneur en polyphénol totaux ne varie pas en fonction de l'âge ou de la provenance du cladode. Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits éthanoliques, deux tests ont été réalisés : test de l'activité antiradicalaire avec l'acide 2, 2-Azinobis 3-éthyle-Benzo Thiazoline-6-Sulphonique (ABTS) et le 2,2 Diphenyl -1- Pycryl Hydrazyl (DPPH). Les résultats de l'extrait éthanoliques du jeune cladode de la région de Bouhinoune exprime une importante activité antiradicalaire avec une valeur IC50 de 605 µg/ml. L'activité antibactérienne démontre que seuls les extraits à l'acétate d'éthyle des deux cladodes jeune et adulte de la région de Bouhinoune présentent une légère activité sur *Bacillus cereus*. L'activité antifongique a eu comme résultats que seule *Aspergillus niger* présente une sensibilité qui se traduit par une décoloration du mycélium. L'aptitude du mucilage des cladodes à former un emballage a été également testée. Bien que ce dernier soit correctement réalisé il nécessite cependant une optimisation.

Mots clés : cladodes du figuier de barbarie, polyphénols, mucilage, activité antioxydante, activité antimicrobienne, activité antifongique.

Abstract

Prickly pear cladode is widely consumed in some countries, given its richness in bioactive components that exhibit various beneficial health effects.

The objective of this study is the analysis and evaluation of the properties and biological activities, namely the antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of certain constituents of cladodes of *Opuntia ficus indica* at different stages of maturity from two regions: Bouhinoune and Larbaa Nath Irathen. The content of total polyphenols is estimated by the method of Folin Ciocalteu. According to the results, the total polyphenol content does not vary according to the age or the origin of the cladode. In order to evaluate the antioxidant activity of the ethanolic extracts, two tests were carried out: test of the antiradical activity with the acid 2, 2-Azinobis 3-ethyl-Benzo Thiazoline-6-Sulphonic (ABTS) and the 2, 2-Diphenyl-1-Pycryl Hydrazyl (DPPH). The results of the ethanolic extract of the young cladode from the Bouhinoune region expresses significant antiradical activity with an IC50 value of 605 µg/ml. The antibacterial activity shows that only the ethyl acetate extracts of the two young and adult cladodes from the Bouhinoune region show a slight activity on *Bacillus cereus*. The antifungal activity has resulted in only *Aspergillus niger* showing sensitivity which results in discoloration of the mycelium. The ability of cladode mucilage to form packaging was also tested. Although the latter is correctly done, it nevertheless requires optimization.

Key words: prickly pear cladodes, polyphenols, mucilage, antioxidant activity, antimicrobial activity, antifungal activity.

Table des matières

Résumé.....	
Abstract.....	
Table des matières.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction générale	
I. Synthèse bibliographique.....	3
I.1 . <i>Opuntia ficus indica</i> (figuier de barbarie)	3
I.1.1 . Description de la plante	4
I.1.1.1 Cladodes	5
I.1.1.2 Epines	5
I.1.1.3 Fleurs	6
I.1.1.4 Fruit :	6
I.2 Compositions chimique de la plante	7
I.2.1 Le cladode	7
I.2.2 Le fruit	11
I.3 Activités biologiques des cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i>	11
I.3.1 Radicaux libres.....	11
I.3.2 Antioxydants	13
I.3.3 Activité antioxydante des cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i>	13
I.3.4 Activité antimicrobienne.....	13
I.4 Valorisations biotechnologique	14
I.4.1 Usages agroalimentaires	14
I.4.2 Utilisation médicale et pharmaceutique.....	15
I.4.3 Cosmétique	16
I.4.4 Autres utilisations	16
II. Matériel et méthodes.....	17
➤ Objectif de l'étude	17

II.1 Matériel	17
II.1.1 Matériel biologique	17
II.1.2 Appareils, produits chimiques et milieux de culture utilisés lors du travail expérimental.....	18
II.2 Méthodes et protocoles expérimentaux	19
II.2.1 Extraction de la peau et du mucilage	19
II.2.2 Détermination de la teneur en eau	20
II.2.2.1 Mode opératoire.....	20
II.2.2.2 Expression des résultats.....	21
II.2.3 Teneur en cendres et en matière organique	21
II.2.3.1 Expression des résultats.....	21
II.2.4 Extraction des polyphénols totaux	21
II.2.5 Dosage des polyphénols totaux	23
II.2.5.1 Principe.....	23
II.2.5.2 Mode opératoire.....	23
II.2.5.3 Expression des résultats.....	24
II.2.6 Test de l'activité antioxydante	24
II.2.6.1 Activité « Scavenger » du radical ABTS.....	24
• Mode opératoire :.....	25
• Expression des résultats	26
II.2.6.2 Test DPPH	26
• Mode opératoire	26
• Expression des résultats	26
II.2.7 Evaluation de l'activité antibactérienne (Antibiogramme)	27
II.2.8 Evaluation de l'activité antifongique	29
II.3 Extraction des polysaccharides du mucilage du cladode et essai de formulation d'un emballage comestible	30
III. Résultats et discussion.....	32
III.1 Teneur en humidité	32
III.2 Teneurs en cendres	32
III.3 Rendement d'extraction en polyphénols	33
III.4 Teneur en polyphénols totaux	34

III.5 Test des activités antioxydantes	35
III.5.1 Activité Scavenger au radical ABTS	35
III.5.2 Test antiradicalaire avec le radical DPPH.....	36
III.6 Activités antimicrobienne.....	38
III.6.1 Evaluation de l'activité antibactérienne	38
III.6.2 Evaluation de l'activité antifongique	40
III.7 Production d'un emballage comestible à base de polysaccharides extrait du mucilage de cladodes	41
IV. Conclusion et perspectives	43
V. Références.....	43

Liste des figures

Figure 1. Figuier de barbarie (Photographie prise à Bouhinoune en 2022)	4
Figure 2. Cladodes de figuier de barbarie (photographie prise à Bouhinoune en 2022).....	5
Figure 3. Glochides et épines de l' <i>Opuntia ficus indica</i> (anonyme 1 et 2).....	6
Figure 4. Fleurs d' <i>Opuntia ficus indica</i> (anonyme 3 et 4)	6
Figure 5. Fruit d' <i>Opuntia Ficus Indica</i> (anonyme 5).....	7
Figure 6 . Radical libre (anonyme 6).....	12
Figure 7. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (anonyme 7).....	12
Figure 8. Carte de localisation des lieux de la récolte des cladodes (Google maps, consulté en 2022).....	17
Figure 9. Étapes de séparation entre le mucilage et la peau des différents cladodes	20
Figure 10. Protocole d'extractions des phénols totaux de la peau des cladodes.....	22
Figure 11. Protocole de dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu.....	23
Figure 12. Processus de réduction du radical ABTS•+ en ABTS en présence d'un antioxydant (RE <i>et al.</i> , 1999).	24
Figure 13. Protocole d'étude de l'activité « scavenging » avec le radical ABTS•+ (RE <i>et al.</i> , 1999).....	25
Figure 14. Protocole de fabrication d'un emballage comestible à base de polysaccharides....	31
Figure 15. Teneur en humidité des échantillons	32
Figure 16. Teneur en cendres des échantillons.....	33
Figure 17. Rendements d'extraction en phénols totaux.....	33
Figure 18. Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits.....	35
Figure 19. Les IC50 des différents extraits phénoliques et standard donnés par le test à l'ABTS	36
Figure 20. Les IC50 des différents extraits phénoliques et standard donnés par le test DPPH	37
Figure 21. Résultat du test des extraits vis-à-vis de la souche d' <i>Aspergillus niger</i>	41
Figure 22. Emballage obtenu après polymérisation du mélange	42

Liste des tableaux

Tableau 1. Compositions en monosaccharides des extraits de différentes parties d' <i>Opuntia ficus indica</i> (Majdoub <i>et al.</i> , 2001).	7
Tableau 2. Composition des cladodes en acides organiques à deux différents temps de récolte (Abidi <i>et al.</i> , 2009).	8
Tableau 3. Composition en acides gras dans les cladodes du figuier de Barbarie (Abidi <i>et al.</i> , 2009).	8
Tableau 4 . Composition en acides aminés dans les cladodes du figuier de Barbarie (Bruckner <i>et al.</i> , 2003).	9
Tableau 5 . Composition en vitamines dans les cladodes du figuier de Barbarie (Stintzing <i>et al.</i> , 2005).	10
Tableau 6 . Composition en polyphénols des cladodes de l' <i>Opuntia ficus-indica</i> (El-Mostafa <i>et al.</i> , 2014).	10
Tableau 7 . Composants à haut poids moléculaire des cladodes de l' <i>Opuntia ficus-indica</i>	10
Tableau 8. Composition chimique de la pulpe du fruit d' <i>Opuntia ficus-indica</i> (Piga., 2004). 11	
Tableau 9. Activité des extraits de cladodes de l' <i>Opuntia ficus indica</i> contre certaines souches bactériennes (Rocchetti <i>et al.</i> , 2018)	14
Tableau 10. Intérêts médicale et pharmaceutique d' <i>Opuntia ficus indica</i>	15
Tableau 11. Appareilles utilisés	18
Tableau 12. Différents milieux culture utilisés	18
Tableau 13 . Réactifs, produits chimiques, solvants organiques et sels utilisés.	19
Tableau 14 : Souches bactériennes testées et l'antibiotique utilisé pour chaque souche.	27
Tableau 15. Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne \pm écart type) exercés par les extraits éthanoliques vis-à-vis des souches testées.	39
Tableau 16. Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne \pm écart type) réalisé par les extraits à base de l'acétate d'éthyle vis-à-vis des souches testées.	39
Tableau 17. Résultats des test des activités antifongiques des extraits à base d'acétate d'éthyle sur l'activité testé sur <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavipes</i> , <i>Penicillium sp</i> , <i>Fusarium sp</i> après une semaine d'incubation à 28°C	40

Liste des abréviations

ABTS: 2, 2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic Acid,

ATCC: American Type Culture Collection,

CAL : Cladode adulte de la région Larbaa Nath Irathen,

DMSO: Diméthyle sulfoxide

DO: Densité Optique.

DPPH : Radical 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

EAG : Equivalent en Acide Gallique.

EAG/g MS : Equivalent en Acide Gallique par gramme de Matière Sèche.

EM : Extrait de malt.

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%.

LNI : Larbaa Nath Irathen.

MCAB : Mucilage de cladodes adultes de Bouhinoune.

MCAL : Mucilage de cladodes adultes de Larbaa Nath Irathen.

MO : Matière organique.

MS : Matière sèche

PCAB : Peau de cladodes adultes de Bouhinoune.

PCAL : Peau de cladodes adultes de Larbaa Nath Irathen.

PDA : Potato dextrose agar.

PTT : Polyphénols totaux.

Tc : Teneur en cendres.

VTC : Volume totale du cladode.

Introduction générale

De nos jours, la consommation des aliments d'origine végétale constitue un enjeu de santé publique du fait de la prise de conscience de la relation entre la qualité des aliments et la santé. Les plantes contenant les principaux groupes de molécules bioactives à savoir les polyphénols, vitamines et caroténoïdes, les quelles présentent une forte activité antioxydante, manifestent un grand intérêt pour l'étude de ces composantes.

Le cactus de figuier de barbarie, *Opuntia ficus indica* est une plante tropicale qui est cultivé dans des climats arides ou semi-arides, tels que les zones méditerranéennes et d'Amérique centrale (Ginestra *et al.*, 2009). Le domaine de la recherche scientifique a permis la redécouverte de cette plante et ses propriétés. Des études scientifiques récentes menées sur cette dernière ont pu déterminer son immense richesse, de sa raquette (cladode) jusqu'aux graines, en molécules bioactives d'intérêt pour la médecine et la santé humaine (Guo *et al.*, 2003).

En effet, les composés phytochimiques, présents dans cette plante à laquelle sont attribués des avantages en matière de soins de santé et de prévention des maladies, ont montré différentes activités à effet pharmacologique, cicatrisant, inhibiteur d'ulcération d'estomac et des effets neuroprotecteurs par le billet des activités antioxydantes et anti-inflammatoires (Ginestra *et al.*, 2009). Le mucilage du cactus présente également des intérêts variés qui sont mis à profit dans l'industrie agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

L'Algérie représente l'endroit idéal pour cultiver les figuiers de barbarie du fait qu'elle englobe toutes les conditions idéales pour assurer un bon développement de la plante avec un meilleur rendement. Plus de quarante variétés de figuiers de barbarie qui pousse en Algérie dont six sont à fruits comestibles réputées par leur goût succulent et sucré. Elles sont caractérisées aussi par une grande quantité de graines contenues dans ce fruit comparée à celles de la Tunisie ou du Maroc.

Au vue des vertus innombrables démontrées par diverses études, une valorisation de celle plante s'impose. Les industries algériennes devraient se pencher sur cet axe afin de développer ce secteur qui s'avère prometteur avec une valeur économique importante (Cherif, 2016).

Dans cette étude on s'intéresse au genre *Opuntia* de la famille des cactacées, plus précisément aux cladodes de l'espèce *ficus indica*. L'objectif de ce travail est d'évaluer *in vitro* quelques activités biologiques des extraits phénoliques des cladodes et de leur mucilage, ainsi que l'aptitude de ce dernier pour formuler un emballage.

Le contenu de ce mémoire est présenté en trois chapitres : le premier est consacré à l'étude bibliographique décrivant avec détails la composition chimique (sucres, protéines, polyphénols...etc.) et une documentation sur la valorisation biotechnologique des cladodes de l'*Opuntia ficus indica*. Le second concerne le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail. Enfin, le dernier chapitre englobe les résultats obtenus et leurs discussions.

I. Synthèse bibliographique

I.1 . *Opuntia ficus indica* (figuier de barbarie)

Opuntia ficus-indica (L.) Mill, appelé figuier de Barbarie est une plante tropicale cultivée dans des climats arides et semi-arides (Ginestra *et al.*, 2009)., elle est originaire du Mexique et s'est ensuite répandue dans de nombreuses régions du monde, comme l'Amérique du Sud et du Nord puis le Sud de l'Afrique durant le 16^{ème} et le 17^{ème} siècle (El Mannoubi *et al.*, 2008) En raison d'un contexte climatique favorable et d'un solide bagage culturel, le Mexique a toujours accueilli les plus grandes cultures, avec une superficie couverte d'environ 50 000 à 70 000 ha, L'Italie suit avec 7000 à 8300 ha de plantations intensives.

Opuntia ficus-indica a toujours été caractérisé par un impact économique et social élevé. D'autres parties comme les cladodes (ou simplement le nopal), qui en dehors des Amériques latines ont été généralement sous-évaluées, étant considérées comme des déchets de taille à exploiter au maximum pour l'alimentation du bétail.

Le mucilage d'*Opuntia ficus-indica* est un polymère naturel produit dans les cellules du parenchyme, à l'intérieur des tissus de différents organes (fruits et cladodes) ayant pour rôle principal la rétention d'eau qui est le composant majeur du cladode (91%) (Timparano *et al.*, 2014). C'est un hétéropolysaccharide de haut poids moléculaire qui se compose de 4.5% de sucres (arabinose, galactose, rhamnose, xylose, acide uronique et acide galacturonique), Les autres composants sont des protéines (1,5%), des lipides (0,2%), cendres (1,3%), et spécialement du calcium (0,090%). De plus, 11 mg de vitamine C par 100 g et 30 µg de caroténoïdes ont été détectés (Sáenz, C *et al.*, 2013).

Taxonomie

D'après Wallace et Gibson. (2002), leur classification systématique est rappelée ci-dessous :

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Caryophyllidae*

Ordre : *Caryophyllales*

Famille : *Cactaceae*

Sous-famille : *Opuntioideae*

Tribu : *Opuntieae*

Genre : *Opuntia*

Espèce : *Opuntia ficus indica* (L.) Mill

I.1.1 Description de la plante

Opuntia ficus indica (Figure 1) a plusieurs appellations qui diffèrent selon les régions : l’idiome local en Espagne (Tuna), dans les pays francophones du bassin méditerranéen elle est surnommé (figuier de barbarie), Angleterre (Prickly pear), en Egypte (El choki) et en Algérie, plus précisément en Kabylie elle est surnommée (Akermous).

C’est une plante arborescente qui peut atteindre 3 à 5 mètres de haut, sa tige est constituée de cladodes appelés aussi « raquettes » unis les uns aux autres, ils sont sous forme aplatie d’une épaisseur de 1 à 3 cm et de 30 à 40 cm de long et d’une largeur de 15 à 25 cm. A l’âge adulte, les cladodes qui forment la base de la plante se lignifient pour former un véritable tronc à partir de quatre ans.

L’appareil racinaire est superficiel, il se concentre dans les 30 premiers centimètres du sol, mais en revanche il est très étendu (Mulas M., et Mulas G, 2004).

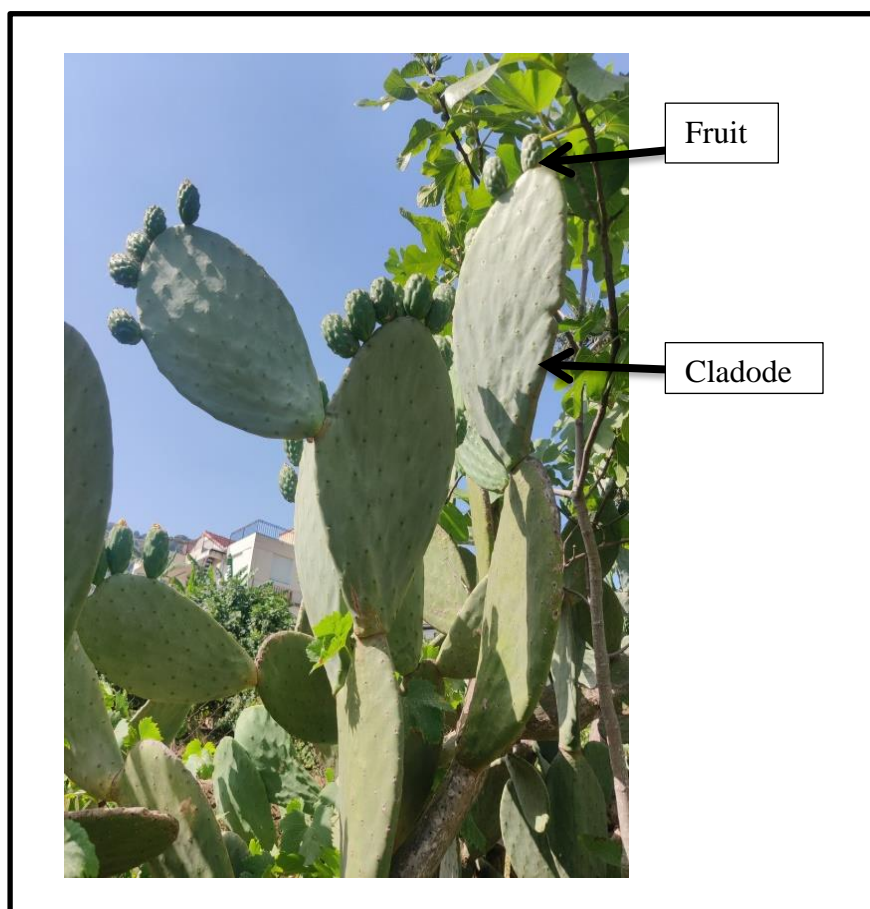


Figure 1. Fiquier de barbarie (Photographie prise à Bouhinoune en 2022).

I.1.1.1 Cladodes

Ils sont de forme charnue et ovale (Figure 2), de couleur verte mate assurant la fonction chlorophyllienne à la place des feuilles. Ils sont protégés par une cuticule qui limite la transpiration tout en assurant la fonction de protection contre les prédateurs (Nobeles, 2002 ; Schweizer., 1997). Les cladodes peuvent être sans ou avec épines selon leur race.



Figure 2. Cladodes de figuier de barbarie (photographie prise à Bouhinoune en 2022)

I.1.1.2 Epines

Elles sont sous forme conique et ont seulement quelque millimètre de long (Figure 3), elles sont éphémères et rudimentaires à leurs bases se trouve les aréoles. Elles produisent des épines blanchâtres avec une surface rude qui ont pour rôle la protection contre les prédateurs tout en limitant la transpiration. A leurs bases on trouve les glochides qui sont de fines épines de couleurs brunâtres qui se décrochent facilement une fois touchées par le vent, en contact avec la peau elle cause des irritations.

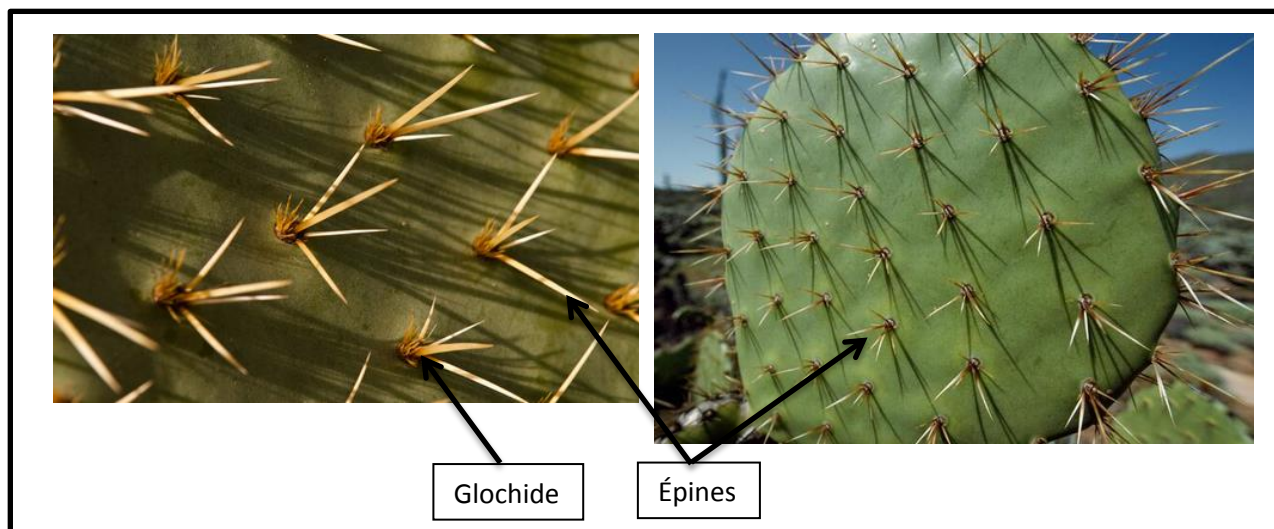


Figure 3. Glochides et épines de l'*Opuntia ficus indica* (anonyme 1 et 2)

I.1.1.3 Fleurs

Les fleurs sont à ovaires infères et hermaphrodites, avec de grandes corolles latérales jaunes, oranges ou rouges (Schweizer., 1997 ; Reyas-aguero *et al.*, 2006). Un cladode fertile peut porter jusqu'à une trentaine de fleurs. Ce nombre varie selon la position du cladode sur la plante et les facteurs physiologiques (Reyes-aguero *et al.*, 2006), elles ont une taille de 4 cm à 10 cm (Figure 4).

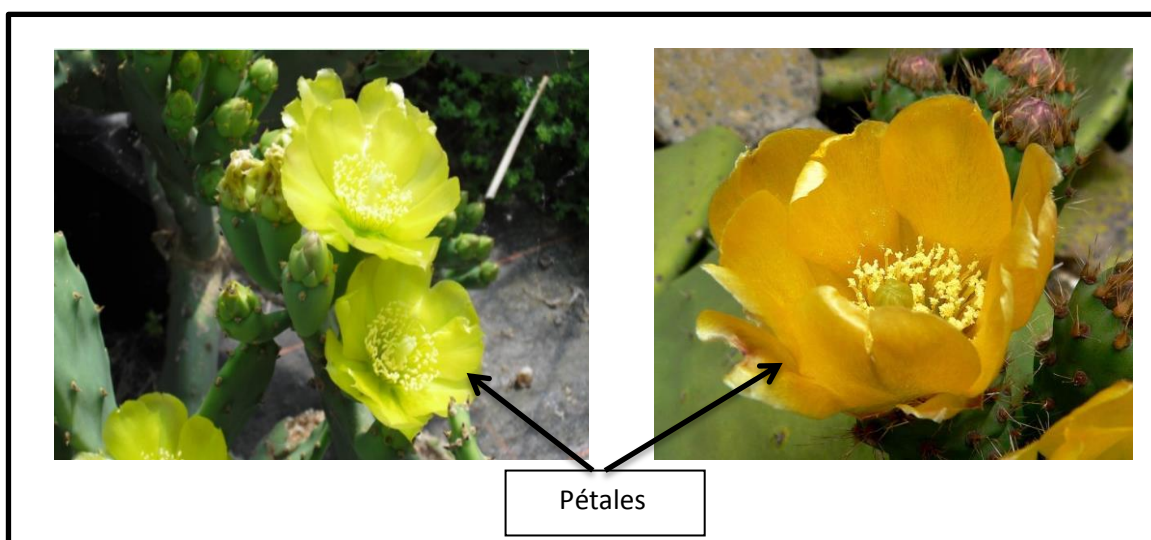


Figure 4. Fleurs d'*Opuntia ficus indica* (anonyme 3 et 4)

Une fois les fleurs développées, elles donnent naissance à des fruits sous forme ovoïde, allongée, ronde et elliptique (Figure 5) de couleurs variables (vert, jaune, rouge, violet) couverte de petites épines. Le fruit pèse de 100 à 150 g, selon l'origine, le cultivar et les conditions édaphiques, il est composé de pulpe, de graines et de peau.

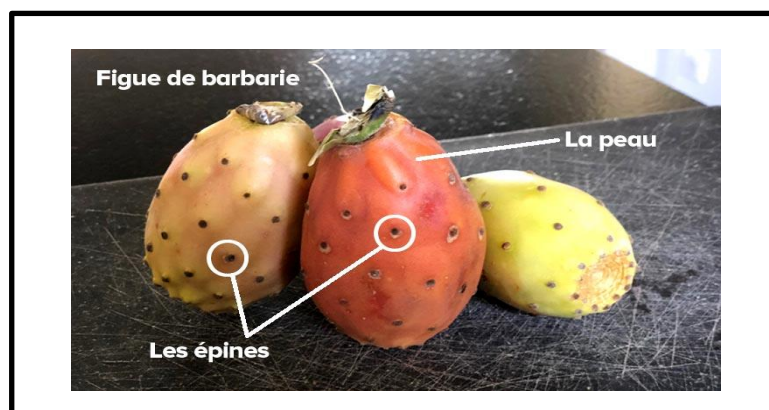


Figure 5. Fruit d'*Opuntia Ficus Indica* (anonyme 5)

I.2 Compositions chimique de la plante

I.2.1 Le cladode

Le cladode est composé essentiellement de mucilage, selon (Sáenz *et al.*, 2004) il est défini comme un polysaccharide neutre contenant environ 55 sucres composés d'arabinose, rhamnose, galactose et xylose (Tableau 1). Différentes quantités de sucres neutres tels que le L-arabinose, le D-galactose, le L-rhamnose et le D-xylose ont été obtenues à partir du mucilage de nopal, des fractions neutres de glucanes, de glycoprotéines et d'acide galacturonique constituent le polysaccharide hydrosoluble d'*Opuntia ficus-indica* (Sáenz *et al.*, 2004). Les techniques de chromatographie sont utilisées pour déterminer la structure moléculaire et la composante en sucres (Forni *et al.*, 1994).

Tableau 1. Compositions en monosaccharides des extraits de différentes parties d'*Opuntia ficus indica* (Majdoub *et al.*, 2001).

Monosaccharides (%)	Extrait du mucilage	Extrait de peau
Glucose	1.9	0
Acide galacturonique	10.2	46.3
Arabinose	15.0	0
Rhamnose	46.0	53.7
Xylose	9.1	0
Mannose	4.1	0
Galactose	11.0	0

Pour les minéraux, le potassium est le principal élément, il occupe 60% de la teneur totale en cendres (166 mg /100g de poids frais), suivie par le calcium (93 mg /100 g de poids frais), sodium (2 mg /100 g de poids frais) et le fer (1,6 mg/100 g de poids frais) tandis que le magnésium n'a pas été détecté (Munoz de chaves *et al.*, 1995). Des études récentes ont démontré que la composition minérale est de 18-57 mg /100g de poids secs pour le potassium, 11-17 mg /100 g pour le calcium et magnésium, suivie du manganèse (62-103 µg /g), du fer (59-66 µg /g), du zinc (22 à 27 µg /g) et du cuivre (8-9 µg /g). Ces valeurs doivent être considérées comme approximatives puisque les teneurs en minéraux varient avec les espèces, le site de culture et l'état physiologique du tissu de cladode. Il est à noter que le calcium joue un rôle crucial dans la rétention d'eau dans les tissus succulents (Stintzing *et al.*, 2005).

Le cladode est composé aussi d'acides organiques (Tableau 2), acides gras (Tableau 3), acides aminés (Tableau 4), vitamines et caroténoïdes (Tableau 5), chlorophylles, composés phénoliques (Tableau 6) et les composés de haut poids moléculaires (Tableau 7).

Tableau 2. Composition des cladodes en acides organiques à deux différents temps de récolte (Abidi *et al.*, 2009).

Acides organiques	6h (matin)	18h (après-midi)
	Poids frais (mg/100g)	
Acide oxalique	35	35
Acide malique	985	95
Acide citrique	178	31
Acide malonique	36	Traces
Acide succinique	Traces	Traces
Acide tartrique	Traces	Traces

Tableau 3. Composition en acides gras dans les cladodes du figuier de Barbarie (Abidi *et al.*, 2009).

Acides Gras	Matière sèche (g/100g)
C12 : 0	1,33
C14 : 0	1,96
C16 : 0	13,87
C16 :1	0,24
C18 : 0	3,33

Suite tableau 3:

Acides Gras	Matière sèche (g/100g)
C18 : 1	11,16
C18 : 2	34,87
C18 : 3	33,23
C20 : 0	-
C22 : 0	-
C22 : 1	-
C24 : 0	-

Tableau 4 . Composition en acides aminés dans les cladodes du figuier de Barbarie (Bruckner *et al.*, 2003).

Acides aminés	Poids frais (mg/100g)
Alanine	0,6
Arginine	2,4
Asparagine	1,5
Acide asparaginique	2,1
Acide glutamique	2,6
Glutamine	17,3
Glycine	0,5
Histidine	2,0
Isoleucine	1,9
Leucine	1,3
Lysine	2,5
Méthionine	1,4
Phénylalanine	1,7
Serine	3,2
Thréonine	2,0
Tyrosine	0,7
Tryptophane	0,5
Valine	3,7

Tableau 5 . Composition en vitamines dans les cladodes du figuier de Barbarie (Stintzing *et al.*, 2005).

Vitamines	Pour 100 g de poids frais
Vitamine C totale	7-22 mg
Niacine	0,46 mg
Riboflavine	0,60 mg
Thiamine	0,14 mg
β -Carotène	11,3 – 53,5 μ g

Tableau 6 . Composition en polyphénols des cladodes de l'*Opuntia ficus-indica* (El-Mostafa *et al.*, 2014).

Polyphénols	Matière sèche (mg / 100 mg)
Acide gallique	0,64-2,37
Coumarique	14,08-16,18
3,4- dihydroxybenzoïque	0,06-5,02
4-hydroxybenzoïque	0,5-4,72
Acide ferulique	0.56-34,77
Isoquercetine	2,29-39,67
Isorhamnetin-3-O-glucoside	4,59-32,21
Nicotiflorine	2,89-146,5
Rutine	2,36-26,17
Narcissine	14,69-137,1

Tableau 7 . Composants à haut poids moléculaire des cladodes de l'*Opuntia ficus-indica*.

Composants à haut poids moléculaire	Matière sèche	Références
Cellulose	11%	(Ben-Thlija., 2002).
Hémicellulose	8%	(Ben-Thlija., 2002).
Lignine	3.9%	(Ben-Thlija., 2002).
Amidon	85-171 mg/g	(Retamal <i>et al.</i> , 1987).
Hydrocolloids	36% VTC	(Sutton <i>et al.</i> , 1981)

VTC : volume totale du cladode

I.2.2 Le fruit

Selon Sáenz, C *et al*, le fruit d'*Opuntia ficus indica* se présente sous différentes formes et tailles telles que : ovoïde, ronde, elliptique et allongée avec des bords plats, concaves ou convexes et à une large gamme de couleurs comme le rouge, l'orange, le violet, le jaune et le vert avec de la pulpe ayant le même couleur. Le fruit pèse de 100 à 150 g, selon l'origine, le cultivar et les conditions édaphiques. La pulpe est la partie comestible du fruit et ses principaux composants sont l'eau (84 à 90%) et les sucres réducteurs (10 à 15 %). Dans le tableau (Tableau 8) la composition chimique de la pulpe du fruit d'*Opuntia* est résumée.

Tableau 8. Composition chimique de la pulpe du fruit d'*Opuntia ficus-indica* (Piga., 2004).

Composant	Teneur (%)
Eau	84-90
Glucide	12-17
Cendre	0,3-1,0
Fibre	0,02-3,15
Protéine	0,21-1,60
Lipide	0,09-0,70
Solides solubles	12-17
Pulpe	43-57
Graines	2-10
Epluchure	33-55
Acidité (acide citrique)	0.05-0.18

I.3 Activités biologiques des cladodes d'*Opuntia ficus indica*

I.3.1 Radicaux libres

Un radical libre (Figure 6) est une espèce chimique, atôme ou molécule, contenant sur sa couche externe un électron célibataire (non apparié), conduisant à une grande instabilité de la molécule ce qui donne des espèces réactives à durée de vie courte.

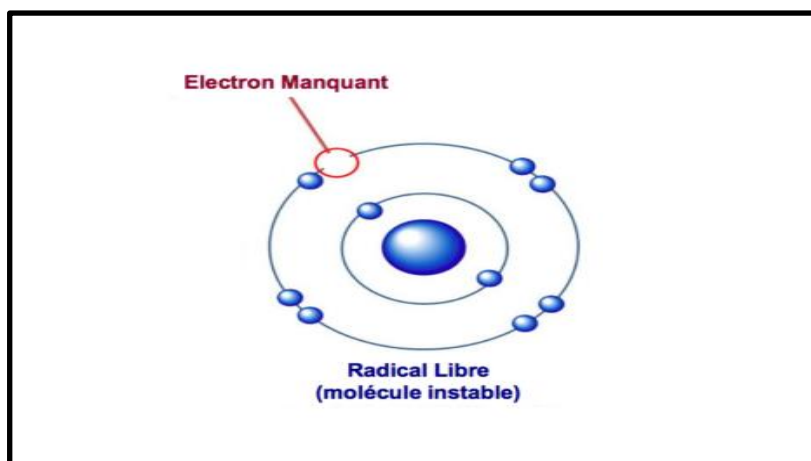


Figure 6 . Radical libre (anonyme 6)

Les radicaux libres sont des agents oxydants causant l'oxydation d'autres molécules par arrachement d'un électron afin d'acquérir leur stabilité (Gilgun-Sherki *et al.*, 2001). Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui volant son électron, et la molécule attaquée devient alors elle-même un radical libre (Fotsing., 2005) (Figure 7).

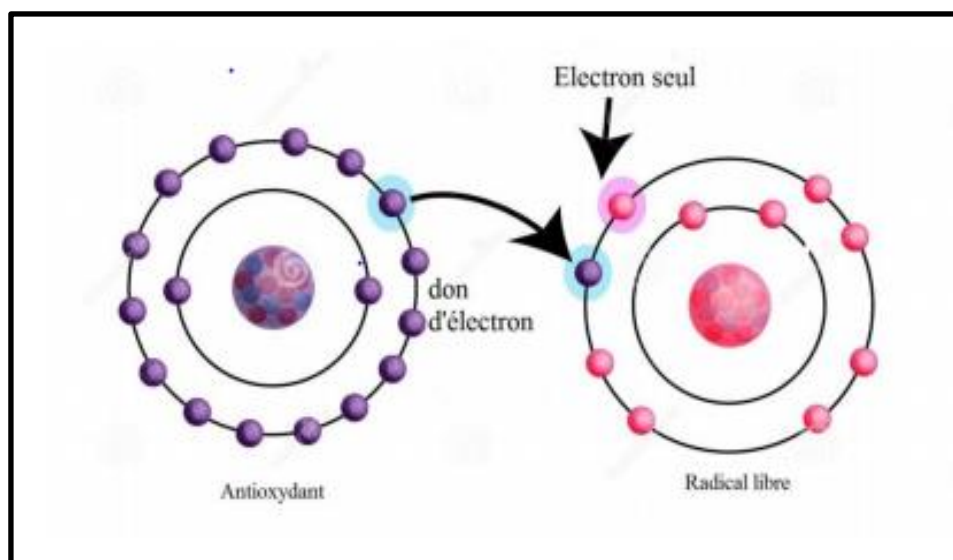


Figure 7. Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (anonyme 7)

- **Mécanisme d'action**

Les acides gras polyinsaturés des membranes constituent une cible privilégiée par le $\text{OH}\cdot$ qui arrache un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, la réaction est appelée peroxydation lipidique. Cela se résume en quatre principales étapes :

- Attaque des dérivés lipidiques par un radical libre ;
- Le radical formé subit un réarrangement interne, dû à une tautomérie liée au déplacement et la double liaison la plus proche de l'électron célibataire ;
- En présence de l'oxygène, il se forme un radical peroxyde (ROO) qui déstabilise une deuxième molécule d'acide gras polyinsaturé et conduit à un hydroperoxyde lipidique (ROOH) et un nouveau radical.

Cette auto-oxydation se propage et s'amplifie d'un acide gras à l'autre (Favier., 2003).

I.3.2 Antioxydants

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique (radical libre), d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver (Tang et Halliwell., 2010). Les polyphénols sont des supports majeurs de l'activité antioxydante (Bathaie *et al.*, 2013) permettant la protection contre le stress oxydant et le vieillissement cellulaire.

I.3.3 Activité antioxydante des cladodes d'*Opuntia ficus indica*

L'activité antioxydante est définie comme étant l'habilité d'un composé (dit antioxydant) à inhiber la dégradation oxydative d'un substrat telle que la peroxydation des lipides et des protéines. Cet antioxydant a pour rôle d'empêcher les radicaux libres d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique (Pincemail *et al.*, 1998 ; Gramza *et al.*, 2005). Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres oxygénés en particulier les radicaux peroxydes (ROO-), superoxydes (O⁻²) et les hydroxyles (OH) (Madhan *et al.*, 2007). Cela est mis en évidence soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres (Tilahun *et al.*, 2018).

I.3.4 Activité antimicrobienne

Différents travaux ont été réalisés afin de faire face aux résistances des microorganismes vis-à-vis des antibiotiques, de ce fait l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de cladodes a été réalisée (Tableau 9).

Tableau 9. Activité des extraits de cladodes de l'*Opuntia ficus indica* contre certaines souches bactériennes (Rocchetti *et al.*, 2018)

Bactéries testés	Cladodes Types d'extractions	Zone d'inhibition
<i>E.coli</i> (ATCC 25922)	Méthanolique	±
	Chloroformique	±
	Ethanolique	±
<i>E.coli</i> (ATCC 35218)	Méthanolique	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	Méthanolique	+
<i>Streptococcus pneumonia</i> (ATCC 49619)	Méthanolique	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	Méthanoïque	-

I.4 Valorisation biotechnologique

Cette plante a de nombreux usages dans différents domaines tels que l'agroalimentaire, médical et cosmétique.

I.4.1 Usages agroalimentaires

Les cladodes sont utilisés pour l'alimentation humaine mais aussi pour l'alimentation animale, les jeunes cladodes sont consommés comme légumes et les adultes servent à la production de confitures de cladodes en saumure, de farines qui pourraient remplacer celle du blé dans différentes préparations. Dans le cas de l'alimentation animale, ils sont utilisés pour l'alimentation des bovins et ovins en produisant des fourrages à base de cladodes, les fleurs servent comme source nutritive très appréciée par les abeilles (Arba., 2009). Le mucilage isolé trouve des applications dans la purification de l'eau potable (Rebah *et al.*, 2017)

Le fruit est comestible, mais il sert à la fabrication de confitures, marmelades et des huiles et autant que colorant naturel et édulcorant (Stintzing *et al.*, 2005). Dans certains pays comme le Mexique, il est consommé en fruits frais ou en conserve ou alors transformé en sirop, caramel ou fromage de figue de Barbarie (Filannino *et al.*, 2016). Quant aux graines, celles-ci sont utilisées pour la fabrication de farines ou des huiles (Mulas M *et al.*, 2004).

I.4.2 Utilisation médicale et pharmaceutique

Les différents intérêts médicaux et pharmaceutiques sont résumés dans le tableau 10.

Tableau 10. Intérêts médicale et pharmaceutique d'*Opuntia ficus indica*.

Partie de la plante utilisée	Intérêt médicale	référence
le fruit	<ul style="list-style-type: none"> - Prévention de maladies : diabète, trouble cardio-vasculaire, infection de l'appareil urinaire et troubles digestifs. <hr/> <ul style="list-style-type: none"> - Activité anti-inflammatoire grâce au β-sitostérol. 	<p>(Arba., 2009)</p> <hr/> <p>(Park <i>et al.</i>, 1998)</p>
La fleur	<ul style="list-style-type: none"> - remède contre le dysfonctionnement de la prostate et contre les insuffisances rénales. <hr/> <ul style="list-style-type: none"> - remède contre aux brûlures et coups de soleil. 	<p>(Rabemanantsoa., 2010)</p> <hr/> <p>(Ennouri <i>et al.</i>, 2005)</p>
Les graines	<ul style="list-style-type: none"> - réductions des risques de maladies cardio-vasculaire et maladies coronariennes. 	
Le mucilage	<ul style="list-style-type: none"> - Activité antiulcéreuse (activité protectrice contre l'ulcère gastrique). 	<p>(Galati <i>et al.</i>, 2002)</p>
La tige	<ul style="list-style-type: none"> - inhibe la réplication intracellulaire de certains virus à ADN et à ARN (virus de l'herpès simplex de type 2, virus de l'herpès équin, virus de la pseudorange, virus de la grippe, virus de la maladie respiratoire syncytiale et le VIH-1). 	<p>(Ahmad <i>et al.</i>, 1996)</p>
Le cladode	<ul style="list-style-type: none"> - Les flavonoïdes (la quercétine, la (+)-dihydroquercétine et la quercétine 3-méthyléthe), sont neuroprotecteurs antioxydants actifs action protectrice contre les lésions oxydatives chez les rats. 	<p>(Dok-Go <i>et al.</i>, 2003)</p>

Suite Tableau 10 :

Partie de la plante utilisée	Intérêt médicale	référence
Le cladode	<ul style="list-style-type: none"> - inhibe la prolifération des lignées cellulaires du cancer du col de l'utérus, de l'ovaire et de la vessie <i>in vitro</i>, et supprime la croissance tumorale chez la souris nue modèle de cancer de l'ovaire <i>in vivo</i>. 	(Loro <i>et al.</i> , 1999; Sreekanth <i>et al.</i> , 2007)
	<ul style="list-style-type: none"> - atténue les symptômes de la gueule de bois comme les nausées, la bouche sèche et l'anorexie. 	(Wiese <i>et al.</i> , 2004)
	<ul style="list-style-type: none"> - Contrôle du têt de sucre et du cholestérol dans le sang. 	(Fernandez <i>et al.</i> , 1990)

I.4.3 Cosmétique

Le mucilage extrait des cladodes est utilisé dans la fabrication des shampoings, crèmes dermiques, des laits hydratants ainsi que des crèmes capillaires (Ennouri *et al.*, 2006).

I.4.4 Autres utilisations

En plus des intérêts précédemment cités, les *Opuntia ficus indica* possèdent d'autres intérêts comme la fabrication de structure d'assainissement des eaux usées et peuvent aussi servir de barrière contre la désertification et l'érosion du sol. Dans le domaine énergétique, elle est utilisée dans la production de biodiésel et la production d'éthanol par le billet de la fermentation microbienne (Del-Valle *et al.*, 2005 ; Hadj Sadok., 2010).

II. Matériel et méthodes

➤ Objectif de l'étude

Le présent travail a été effectué au niveau du laboratoire de recherche Biochimie Analytique et Biotechnologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques, durant la période comprise entre mars et fin Juin de l'année universitaire 2022. Cette étude porte sur la valorisation des différentes parties du cladode du figuier de barbarie par l'évaluation de quelques activités biologiques d'extraits issus de différents échantillons collectés de deux régions différentes de la wilaya de Tizi-Ouzou.

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique

Deux échantillons de cladodes du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) ont été récoltés dans deux régions différentes de la wilaya de Tizi-Ouzou (Figure 8) à savoir Larbaa Nath Irathen et Bouhinoune au mois de Mars de l'année 2022. Les différents échantillons récoltés ont été utilisés à l'état frais afin d'éviter toute altération du produit.



Figure 8. Carte de localisation des lieux de la récolte des cladodes (Google maps, consulté en 2022)

II Matériel et méthodes

II.1.2 Appareils, produits chimiques et milieux de culture utilisés lors du travail expérimental

Les appareils utilisés, les différents milieux de culture, les produits chimiques, solvants organiques et sels utilisés sont résumés dans les tableaux 11,12 et 13 ci-dessous.

Tableau 11. Appareilles utilisés

Appareilles	Références
Spectrophotomètre UV-visible	BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO.LTD(UK),VIS7220G
Balance de précision	Sartorius,BP121S
Balance	DENVER INSTRUMENT, MXX-612
Autoclave	Pbi International
Etuve 37°C et 105°C	memmert 854 Schwabach, memmert
Four à moufle	NABERTHERM Controller B170
Centrifugeuse Réfrigérer	Hettichzentrifugen D-7200 tuttingen
Bain-marie	WiseBath (Fuzzy control system)
Agitateur magnétique	VELP SCIENTIFICA, VARIOMAG electronicührer poly15 NETEZ
Rota-vapeur	Stuart
Vortex	VELP SCIENTIFICA (Zx3)
Congélateur et Réfrigérateur	ENIEM

Tableau 12. Différents milieux culture utilisés

Milieux de cultures
Gélose Nutritive (GN) (HIMEDIA).
Mueller Hinton Agar (MHA) (HIMEDIA).
Agar à Extrait de malte (EM)
Extrait de pomme de terre agar “Potato Dextrose Agar (PDA)”

Tableau 13 . Réactifs, produits chimiques, solvants organiques et sels utilisés

Réactifs	Sels	Solvants organiques	Produits chimiques
Réactif de folin-ciocalteu (SIGMA ALDRICH),	Persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$)	Ethanol (Biochem chemopharma)	Acide ascorbique
2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl, (DPPH)	Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (Fluka)	Acétate d'éthyle (Biochem chemopharma)	Acide gallique
2,2-azini-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate, (ABTS)	Chlorure de sodium (NaCl)	Diméthylsulfoxyde (DMSO) (Biochem chemopharma)	

II.2 Méthodes et protocoles expérimentaux

II.2.1 Extraction de la peau et du mucilage

L'extraction a été réalisée selon la méthode d'Espino-Diaz avec quelques modifications (Espino-Diaz *et al.*, 2010). Les épines des cladodes ont été enlevées à l'aide d'une pince ensuite les cladodes ont été lavés et rincés à l'eau distillée puis découpés. La peau fut séparée du mucilage à l'aide d'un scalpel. Les différentes étapes sont récapitulées dans la figure 9.

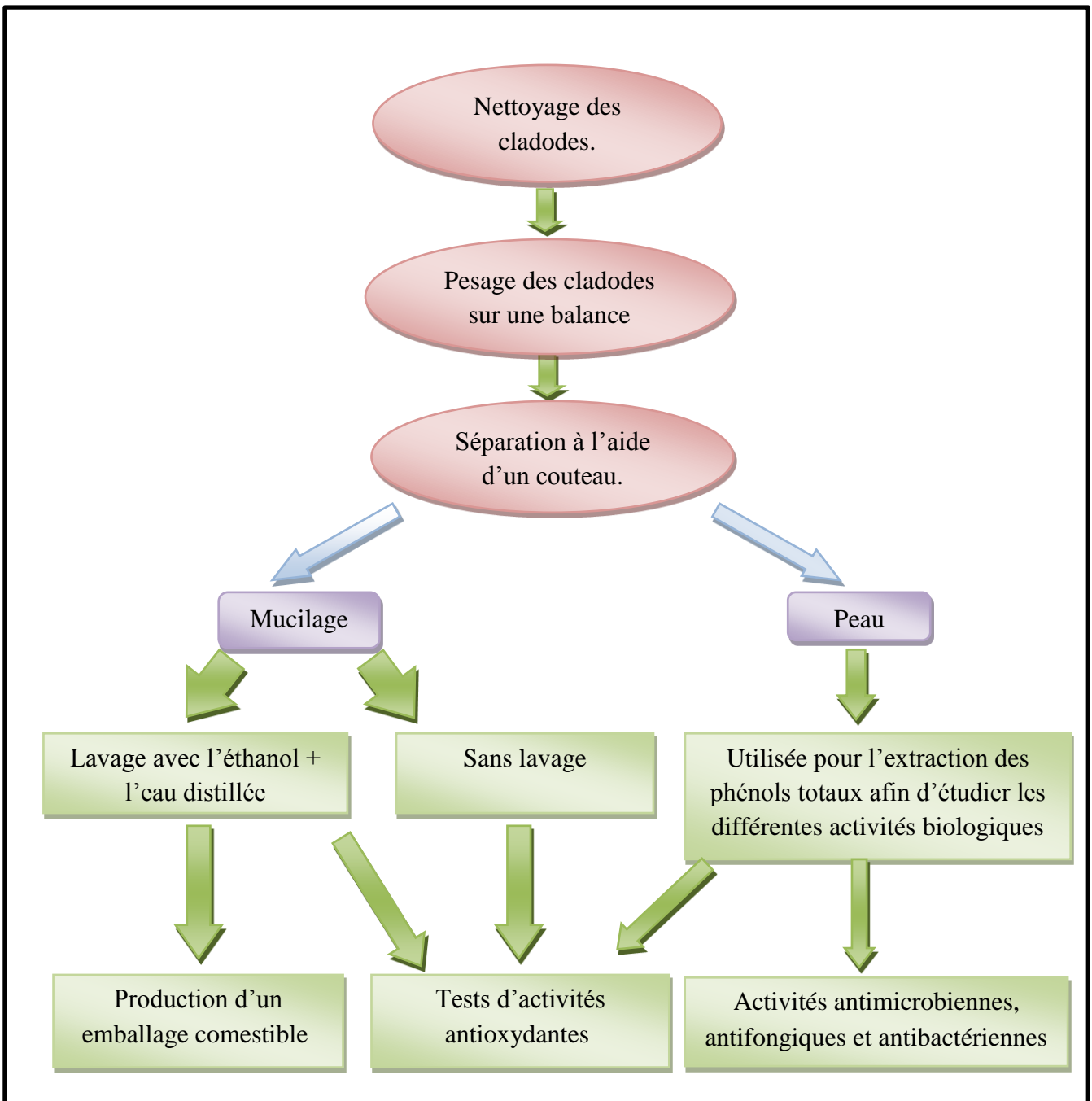


Figure 9. Étapes de séparation entre le mucilage et la peau des différents cladodes

II.2.2.1 Mode opératoire

Des morceaux de cladodes ont été prélevés afin d'évaluer la teneur en eau de la biomasse entière. La peau fut ensuite séparée du mucilage pour déterminer sa teneur en eau et en cendres. Les échantillons ont été placés dans une étuve à 105°C jusqu'à obtention d'un poids sec constant.

II.2.2.2 Expression des résultats

Le taux d'humidité est exprimé en (%) selon la formule suivante :

$$H\% = (E1-E2/E1)*100$$

- H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.
- E1 : Poids de l'échantillon frais (g).
- E2 : Poids de l'échantillon après séchage (g).

Calcul de matière sèche :

$$\text{Matière sèche \%} = 100-H\%$$

II.2.3 Teneur en cendres et en matière organique

La matière sèche obtenue de la peau et du mucilage a été déposée dans des capsules en porcelaine puis placées dans un four à moufle à 550°C pendant 3 heures jusqu'à destruction totale de toute particule carbonneuse (couleur grise claire ou blanchâtre). Ensuite, les capsules sont retirées du four et mises dans un dessiccateur pour les refroidir avant de procéder à la pesé (Bruneton., 1999).

II.2.3.1 Expression des résultats

La teneur en matière organique est calculée comme suit :

$$MO\% = (M1-M2)/P$$

- MO : matière organique.
- M1 : masse des capsules + prise d'essais M2 : masse des capsules + cendre.
- P : la masse de prise d'essais.

La teneur en cendre est donnée par la formule suivante :

$$Tc = 100-MO\%$$

II.2.4 Extraction des polyphénols totaux

Après avoir séparé la peau du mucilage, elle a été découpée en petits morceaux puis séchée dans une étuve à 50°C pendant 24h. La matière ainsi obtenue est broyée afin d'obtenir une poudre fine qui va servir à l'extraction des polyphénols totaux avec deux solvant différents, à savoir l'éthanol et l'acétate d'éthyle, cette démarche est décrite sur la figure 10.

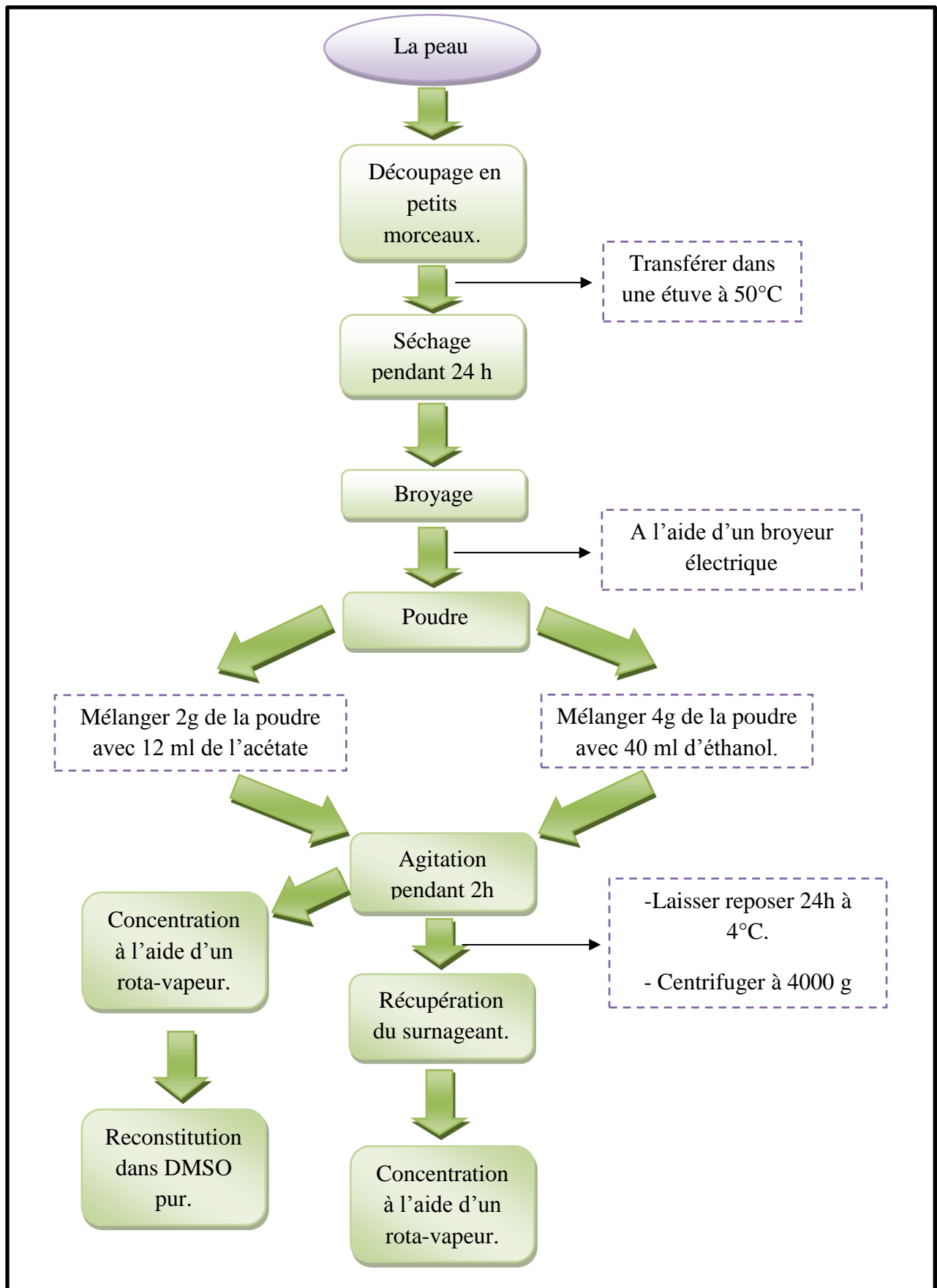


Figure 10. Protocole d'extractions des phénols totaux de la peau des cladodes.

II.2.5 Dosage des polyphénols totaux

II.2.5.1 Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydo-réduction. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles, acides contenant du molybdène et du tungstène (Gervaise., 2004). La méthode consiste à réduire le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}P_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La présence de carbonates de sodium rend le milieu légèrement alcalin.

II.2.5.2 Mode opératoire

Le contenu en phénols totaux des extraits est déterminé en utilisant le protocole de Yap *et al.* (2009) (figure 11) en y rajoutant quelques modifications. Différentes dilutions de nos échantillons ont été préparées pour y ajouter 40 μ l du réactif Folin-Ciocalteu. Après cinq minutes d'incubation, un volume de 200 μ l de la solution aqueuse de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% est additionné au milieu réactionnel, puis le mélange est incubé à température ambiante pendant 20 min à l'obscurité. Les absorbances sont mesurées à 750 nm au spectrophotomètre contre un blanc sans extrait, la quantification des composés phénoliques est réalisée en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire de la forme ($y = a x$) à base d'acide gallique (0 à 90 μ g/ml) comme référence (Annexe 01)

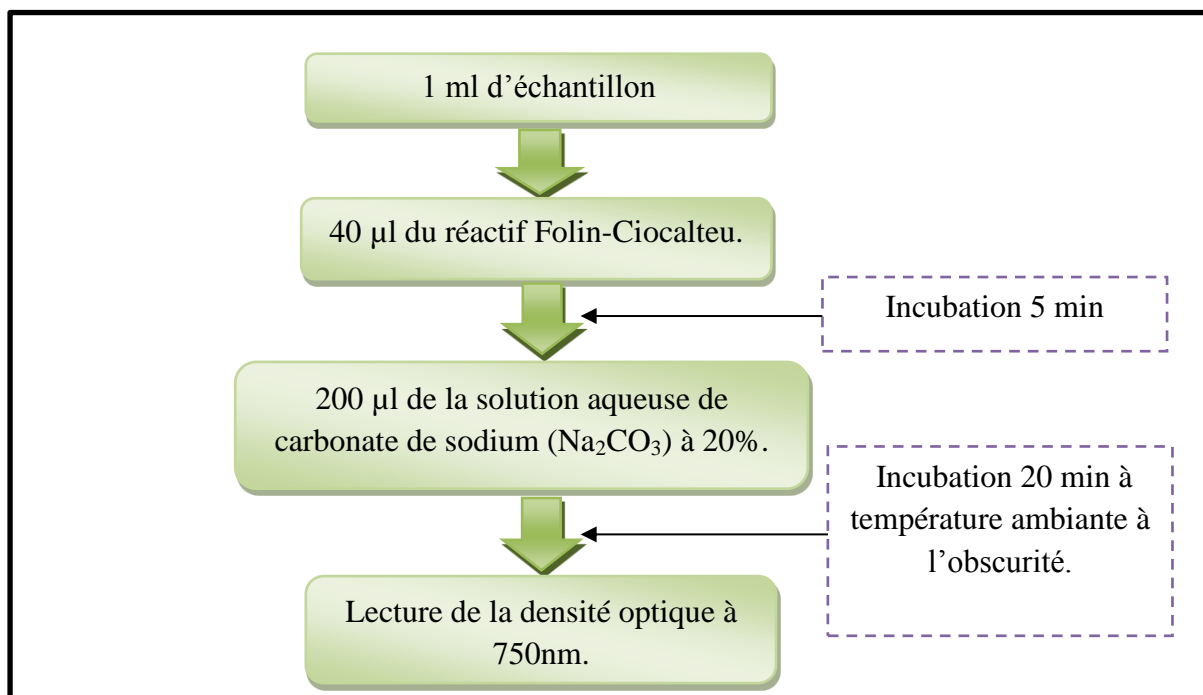


Figure 11. Protocole de dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu.

II.2.5.3 Expression des résultats

La concentration des polyphénols a été déterminée par la formule suivante :

$$T = C * \frac{V * D}{P_s}$$

T : teneur en phénols totaux.

C : concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduit de la courbe.

V : Volume de l'extrait.

D : facteur de dilution.

P_s : poids de la matière sèche.

II.2.6 Test de l'activité antioxydante

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des échantillons étudiés, deux tests *in vitro* ont été réalisés pour chaque échantillon (le test de réduction des radicaux ABTS et DPPH).

II.2.6.1 Activité « Scavenger » du radical ABTS

La formation du radical cation ABTS^{•+} résulte de l'arrachement d'un électron de l'un des atomes d'azote de la molécule ABTS par un oxydant (le persulfate de potassium). En présence d'antioxydants donneurs de protons, ce radical ABTS^{•+} de coloration bleu-vert est réduit en ions ABTSH⁺ incolore (Figure 12). Le suivi de cette décoloration à 734 nm permet d'évaluer le potentiel antiradicalaire de l'extrait (Re *et al.*, 1999). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard à savoir l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

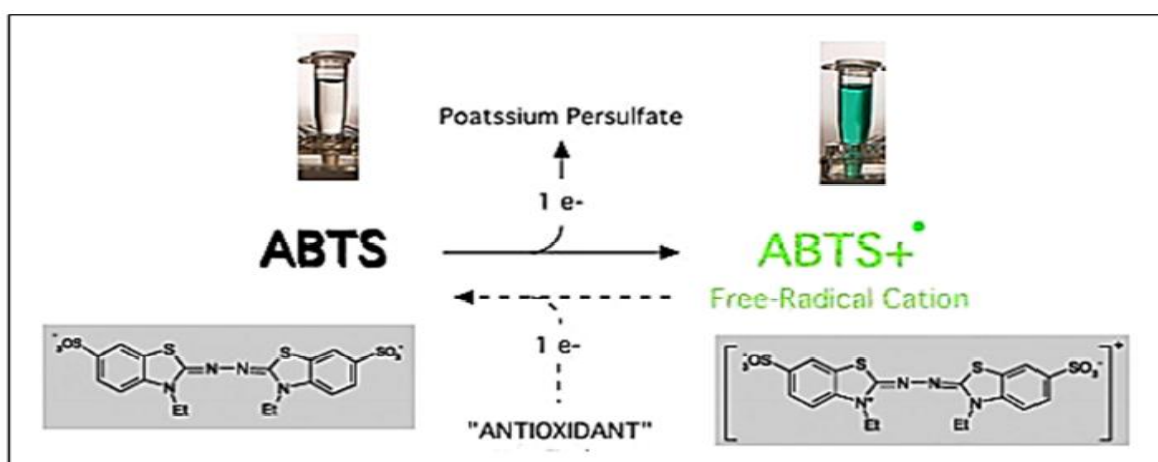


Figure 12. Processus de réduction du radical ABTS^{•+} en ABTS en présence d'un antioxydant (RE *et al.*, 1999).

- **Mode opératoire :**

Le mode opératoire est résumé par la Figure 13.

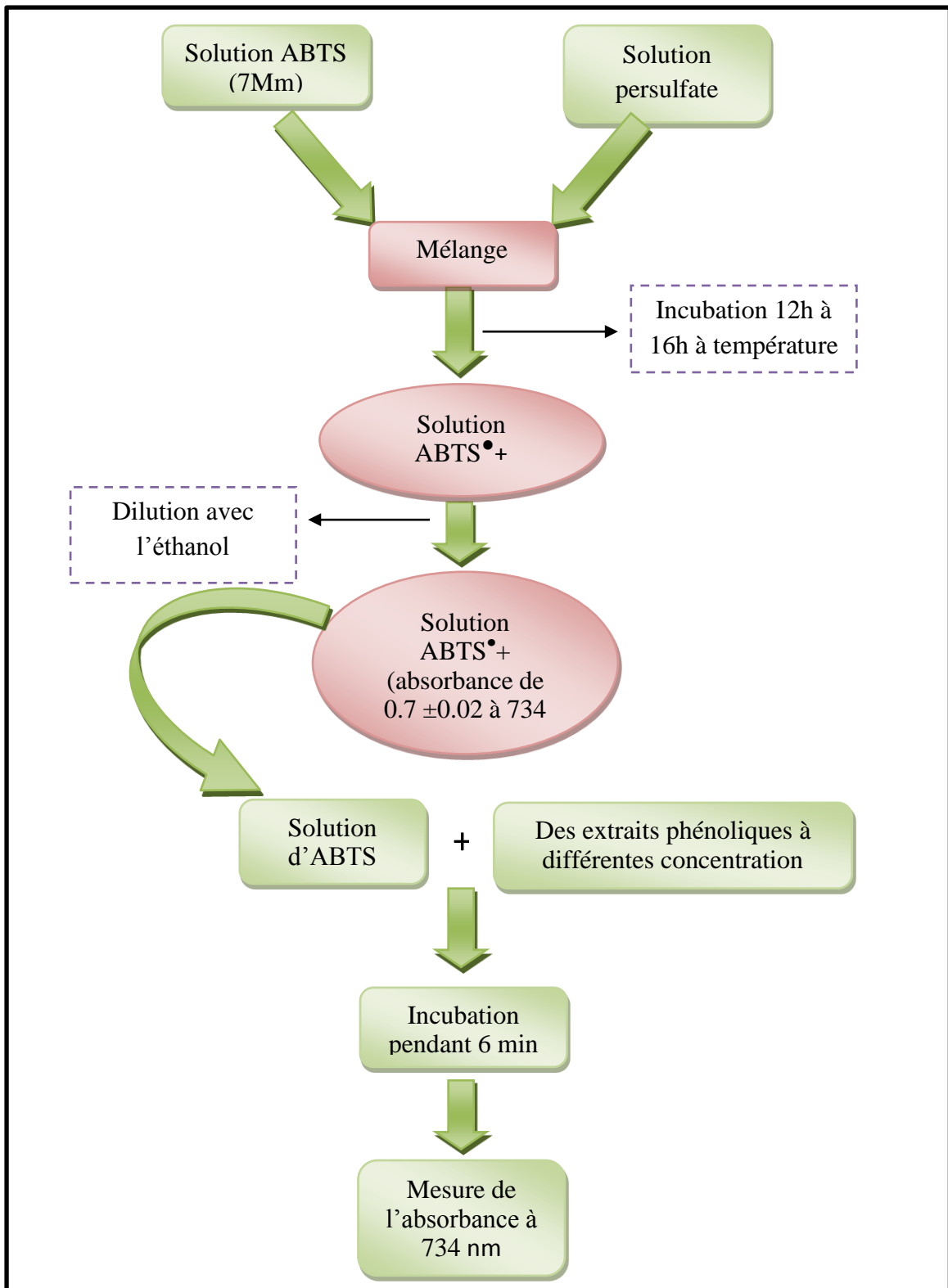


Figure 13. Protocole d'étude de l'activité « scavenging » avec le radical ABTS•+ (RE *et al.*, 1999).

- **Expression des résultats**

Pour déterminer les IC50, différentes concentrations d'extrait ont été testées. Le pourcentage de réduction du radical ABTS•+ a été calculé par la loi suivante:

$$\%ABTS\bullet+ \text{ inhibé} = \text{Absorbance blanc} - \text{Absorbance échantillon} / \text{Absorbance blanc} \times 100$$

II.2.6.2 Test DPPH

L'activité antiradicalaire est estimée en utilisant le 2,2 Diphenyl -1- PycrylHydrazyl (DPPH), qui est un radical libre et stable, de couleur violette intense due à la délocalisation de son électron célibataire autour de la molécule. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette à 517 nm. La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un proton qui se fixe avec le DPPH d'où la diminution de l'intensité de la couleur (Gulcin *et al.*, 2003).

- **Mode opératoire**

Le test du pouvoir antiradicalaire est réalisé selon la méthode de (Brand williams *et al.*, 1995). La solution du DPPH est préparée par solubilisation de 0.02mM de DPPH dans 100mL d'éthanol. Un volume de 50µl d'extraits phénoliques ou standards sont ajoutés à 1mL de DPPH et un contrôle est préparé avec 50 µl du solvant utilisé avec 1 ml de DPPH, Après homogénéisation au vortex le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min. Les densités optiques sont mesurées à 517nm. Le témoin positif est représenté par une solution d'acide ascorbique avec des concentrations allant de 0 à 200ug/ml comme antioxydant standard (annexe 2)

- **Expression des résultats**

L'activité anti radicalaire, qui exprime la capacité de piéger des radicaux libres, a été estimée par le pourcentage d'inhibition du DPPH selon la formule suivante (Wang *et al.*, 2002) :

$$I \% = AC - AE / AC \times 100$$

I % : pourcentage d'inhibition

AC : l'absorbance de la solution DPPH.

AE : l'absorbance de l'échantillon.

II Matériel et méthodes

Le pourcentage d'inhibition permet de calculer le paramètre IC50, défini comme étant la concentration efficace de l'extrait nécessaire pour réduire de 50% la concentration de DPPH initiale. Ces IC50 sont déterminées graphiquement par la droite de régression dont l'abscisse représente la concentration des échantillons et l'ordonnée l'activité antiradicalaire en pourcentage. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée si son IC50 est petite (Molyneux., 2004 ; Huang *et al.*, 2005).

II.2.7 Evaluation de l'activité antibactérienne (Antibiogramme)

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode de l'antibiogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis-à-vis des extraits. Cette méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri préalablementensemencée par une suspension bactérienne. Selon Cavallo *et al* (2007), l'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition après un certain temps de contact et en fonction du diamètre d'inhibition. Des disques en papier whatman de 5 mm de diamètre, sont alors placés en surface de la gélose, puis imprégnés des extraits à tester (Wilkinson., 2006). Les différentes souches bactériennes testées représentées dans le tableau 14 ont été fournies par le laboratoire de recherche de la faculté (LABAB). Elles comprennent des espèces Gram+ et Gram-.

Tableau 14. Souches bactériennes testées et l'antibiotique utilisé pour chaque souche.

Souche	Etat frais	Gram	Antibiotique caractérisant chaque souche
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	Bacille	Gram +	Erythromycine
<i>Staphylococcus aureus</i> MU 50	Coque	Gram +	Erythromycine
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Coque	Gram +	Erythromycine
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Coccobacille	Gram -	Erythromycine

- **Milieux de culture**

La gélose nutritive est utilisée pour l'isolement des souches, c'est un milieu adéquat pour la majorité des bactéries. Pour les tests de sensibilité des bactéries aux différents extraits, la gélose Mueller Hinton est utilisée.

- **Préparation des disques**

Des disques de papier Whatman n°3 de 6 mm de diamètre, sont stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

- **Préparation des pré-cultures bactériennes**

Les souches bactériennes sont ensemencées dans une gélose nutritive par la méthode des stries et incubées à 37°C pendant 18h.

- **Standardisation et préparation de l'inoculum**

Les suspensions bactériennes utilisées sont issues de cultures jeunes âgées de 18h. Pour cela, après l'incubation les colonies bactériennes des souches à tester sont raclées et bien isolées à l'aide d'une anse à boucle de platine. Ensuite, elles sont déchargées dans de l'eau physiologique stérile. Après une bonne homogénéisation, les bactéries en suspension ont été diluées jusqu'à l'obtention de l'opacité de Mac Ferland de 0,5 équivalent à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit l'eau physiologique stérile si la DO est supérieur à 0,10 ou bien des colonies microbiennes si la DO est inférieur a 0,08. Une fois dans la bonne longueur d'onde la suspension bactérienne peut-être utiliser.

- **Mode opératoire**

Pour la réalisation d'un tapis bactérien la technique d'écouvillonnage est utilisée, elle consiste à tremper un écouvillon dans la suspension préalablement préparé puis l'essorer en pressent fermement contre la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 45° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur tout le diamètre gélosé. Le même écouvillon est utilisé pour ensemencer plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Des disques stériles sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Un volume de chaque extrait (récupéré avec du DMSO ou de

l'éthanol) est déposé sur les disques. Des antibiotiques caractérisant chaque souche sont utilisés comme témoin positif et un volume de DMSO est déposé sur un disque sert de témoin négatif. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

- **Expression des résultats**

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques et les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre de cette dernière et peuvent être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (Ponce *et al.*, 2003).

II.2.8 Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique est évaluée par la méthode de confrontation directe entre les extraits et les espèces fongiques afin de déterminer la sensibilité de ces dernières vis-à-vis des extraits. Cette méthode repose sur la diffusion du composé à effet antifongique en milieu solide dans une boîte de pétri ensemencer par une espèce fongique. L'activité antifongique sur la cible est appréciée par l'observation d'une zone d'inhibition de la croissance du champignon autour de l'extrait après un certain temps de contact et du développement de l'espèce fongique.

- **Milieux de cultures**

La gélose à l'extrait de pomme de terre "potato dextrose agar" (PDA) est utilisée pour le repiquage des souches fongiques et la gélose agar à extrait de malt (EM) est utilisée pour les tests de sensibilité des souches fongiques aux différents extraits.

- **Les souches fongiques**

Les souches utilisées dans cette étude sont : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp. Elles ont été fournies par le laboratoire Biomasse et environnement et le laboratoire de mycologie de l'université ABDERAHMANE Mira de Bejaia.

- **Repiquage des souches fongiques**

A l'aide d'un écouvillon stérile des fragments et spores du mycélium sont récoltés, puis frottés sur la totalité de la surface de gélose PDA de haut en bas et en stries. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 45° à chaque fois. L'incubation des cultures est effectuée à 28°C pendant 4 à 5 jours.

- **Mode opératoire**

Un disque de 8mm de diamètre d'une jeune culture mycélienne est déposé au centre de la boîte de pétri contenant la gélose EM. Trois puits de 8 mm de diamètre ont été creusés sur la gélose autour du disque mycélien précédemment déposé, puis rempli d'un volume de 50µl des extraits. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 28°C et observées quotidiennement pendant 10 jours, les témoins sont des monocultures réalisées pour chaque champignon et sont ensemencés dans un milieu à base d'extrait de malt.

- **Expression des résultats**

La lecture des résultats est faite par la comparaison de l'état du développement entre les témoins et les boîtes contenant les champignons en confrontation direct avec les extraits. Si une anomalie ou une inhibition est observée dans le développement du champignon le résultat est considéré positif et l'extrait possède une certaine activité antifongique. Si aucune anomalie ou inhibition du développement du champignon est aperçue vis-à-vis du témoin le résultat est donc négatif et l'extrait ne possède pas d'activité antifongique.

II.3 Extraction des polysaccharides du mucilage du cladode et essai de formulation d'un emballage comestible

L'extraction des polysaccharides a été réalisée avec de l'éthanol (96%) (Volume /volume) après broyage et chauffage du mucilage à 80°C pendant 40min.

Des centrifugations à 4000 g/min ont été effectuées pour récupérer le culot qui a subi des lavages avec de l'éthanol et de l'eau distillée pour assurer la dépigmentation du polymère. Suite à cette procédure en résulte une poudre blanchâtre après séchage. La poudre (polysaccharides) est ensuite solubilisée dans de l'eau distillée puis additionnée avec un volume de glycérol. La solution est déposée dans une boîte de pétri pour son séchage, les différentes étapes de fabrication de l'emballage sont résumées dans le schéma ci-dessous (figure 14).

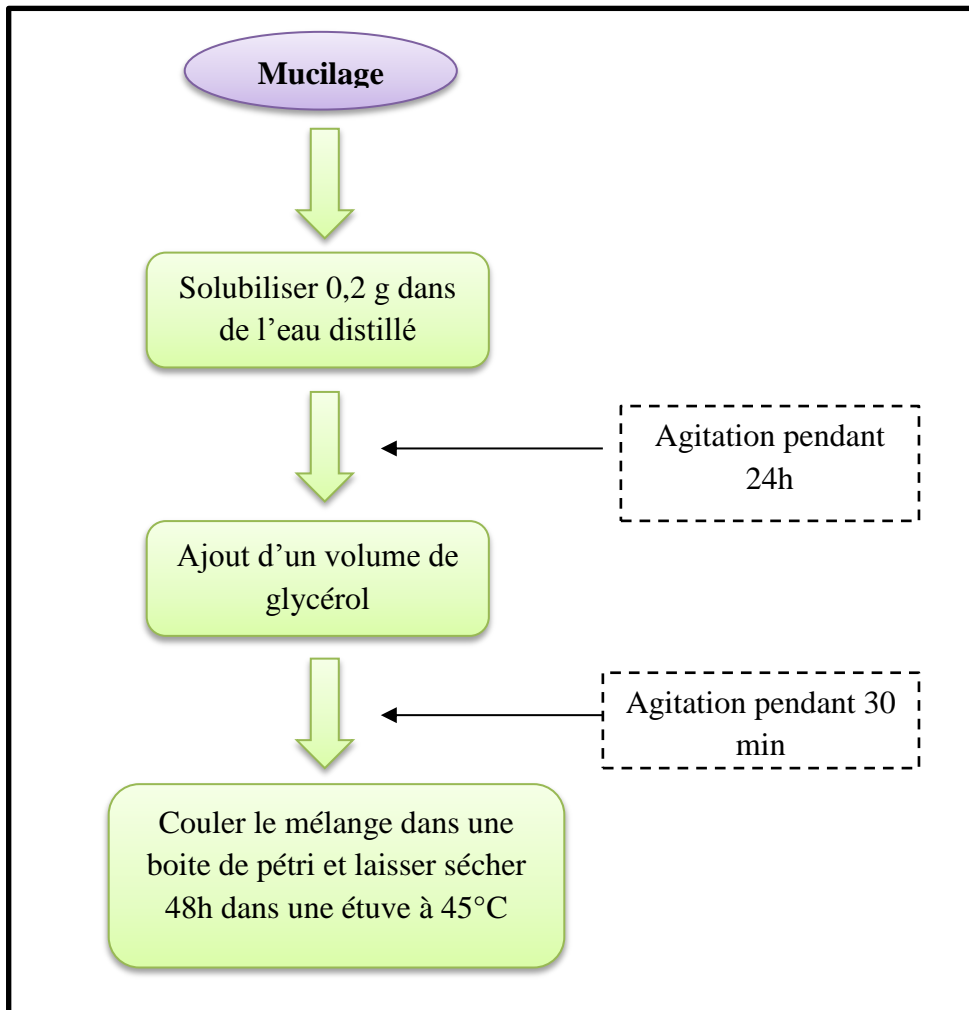


Figure 14. Protocole de fabrication d'emballage comestible à base de polysaccharides.

III. *Résultats et discussion*

III.1 Teneur en humidité

Les résultats obtenus pour les teneurs en matières sèches et en eau sont résumés dans la figure 15.

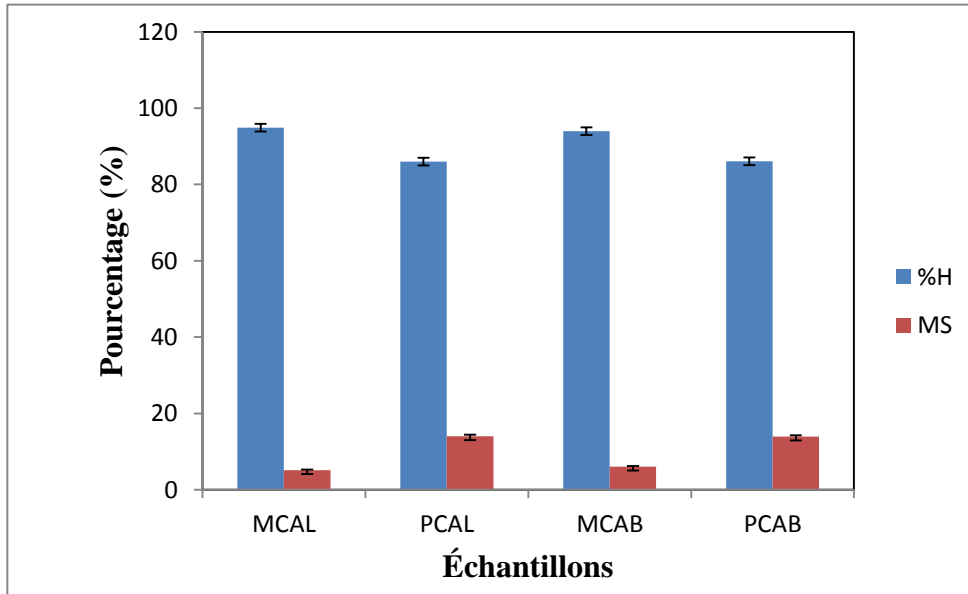


Figure 15. Teneur en humidité des échantillons

MCAL : mucilage de cladode adulte de Larbaa Nathe Irathen,

MCAB : mucilage de cladode adulte de Bouhinoune,

PCAL : peau de cladode adulte de Larbaa Nathe Irathen,

PCAB : peau de cladode adulte de Bouhinoune.

Il est constaté que les échantillons des cladodes sont riches en eau et en matières volatiles, ce qui procure à celle-ci une grande résistance face aux sécheresses.

Les résultats ont révélé un taux de matière sèche compris entre $5.13 \pm 0.16 \%$ et 14.01 ± 0.41 . Cela signifie que la quasi-totalité du cladodes est constitué d'eau ($85.99 \pm 0.12 \%$ à $94.87 \pm 0.16 \%$).

III.2 Teneurs en cendres

Le taux de cendres renseigne sur la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon de peau ou du mucilage des cladodes, ces derniers n'étant pas volatil à haute température contrairement aux matières organiques, par déduction le taux de la matière organique présent dans le même échantillon est ainsi déterminé. Les résultats obtenus pour le cladode de la région de Bouhinoune sont illustrés dans la figure 16.

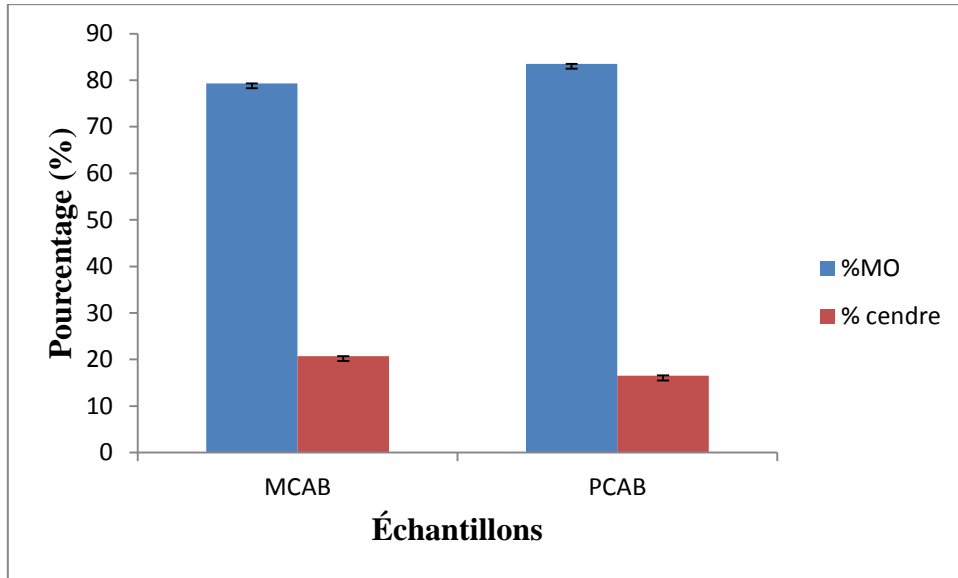


Figure 16. Teneur en cendres des échantillons.

MCAB : mucilage cladode adulte de Bouhinoune,

PCAB : peau cladode adulte de Bouhinoune.

III.3 Rendement d'extraction en polyphénols

Les rendements d'extraction des polyphénols des différents échantillons sont exprimés en pourcentage (%) de masse d'extrait par rapport à la masse de la poudre de la peau de cladode (4g). Les valeurs sont regroupées dans la (figure 17).

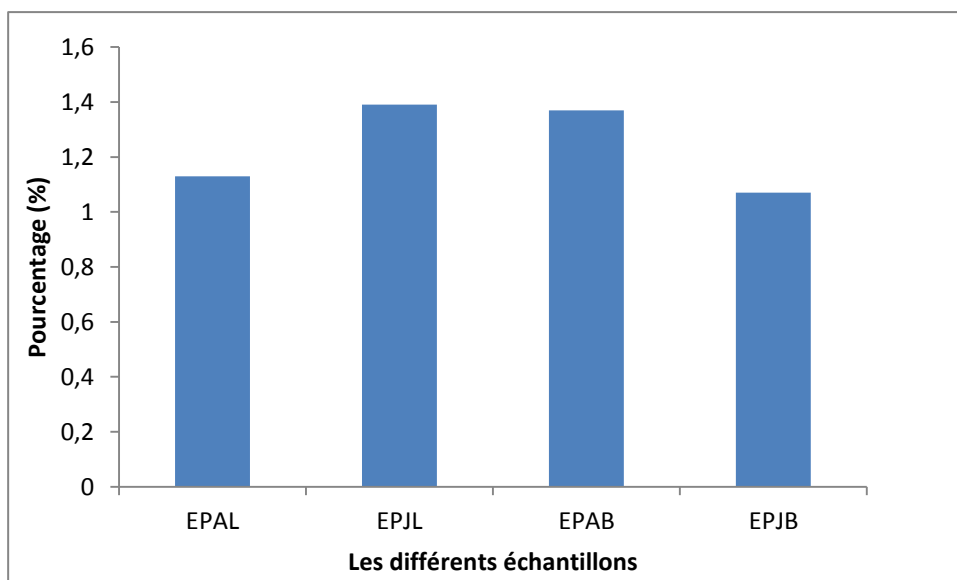


Figure 17. Rendements d'extraction en phénols totaux

MCAL : mucilage de cladode adulte de Larbaa Nath Irathen,

MCAB : mucilage de cladode adulte de Bouhinoune,

PCAL : peau de cladode adulte de Larbaa Nath Irathen,

PCAB : peau de cladode adulte de Bouhinoune.

Les rendements des extractions est de 1.07% jusqu'à 1.39% pour les différents échantillons en utilisant l'éthanol (96%). Les rendements sont nettement plus faibles par rapport à ceux des travaux de Brahmi F *et al* (2022) où l'extraction des phénols totaux est effectuée avec différentes concentrations d'éthanol (20 %, 40 %, 60 %, 80 % et 100 %) pour déterminer l'effet des variations sur l'efficacité d'extraction des composés phénoliques. La teneur en phénols totaux a augmenté avec l'éthanol concentré (de 20% à 40%) allons de 26 à 29 mg EAG/g MS, puis progressivement diminuée (de 29 à 4 mg EAG/g MS) quand la concentration d'éthanol a augmenté (de 40% à 100%). Par conséquent, la teneur phénolique la plus élevée a été obtenue avec 40% d'éthanol alors que la valeur la plus faible était obtenue avec de l'éthanol pur. Ce comportement était attendu car les phénols sont plus solubles dans le solvant polaire, l'eau étant plus polaire que l'éthanol.

Cela s'explique par la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques, ce qui les rend facile à extraire à l'aide de solvants polaires. En ce qui concerne le solvant, Brahmi F *et al* (2022) ont déduit que les conditions optimales pour l'extraction des phénols se fait à une concentration de (36%) pour l'éthanol à 53°C pendant 60 min.

III.4 Teneur en polyphénols totaux

La mesure de l'absorbance d'une solution d'acide gallique, pris comme standard, à différentes concentrations, nous a permis de tracer une courbe d'étalonnage (annexe 1). L'analyse quantitative des polyphénols est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Des concentrations de 11.39 ± 0.2 mg EAG/g MS pour l'extrait EPAL et de 10.7 ± 0.07 mg EAG/g MS pour l'extrait d'EPJB en phénols totaux ont été déduites, comparées aux deux autres échantillons qui possèdent des concentrations supérieures, 13.962 ± 0.3 mg EAG/g MS pour EPCJL, et de 13.73 mg EAG/g MS pour EPCAB comme résumé dans la figure 18.

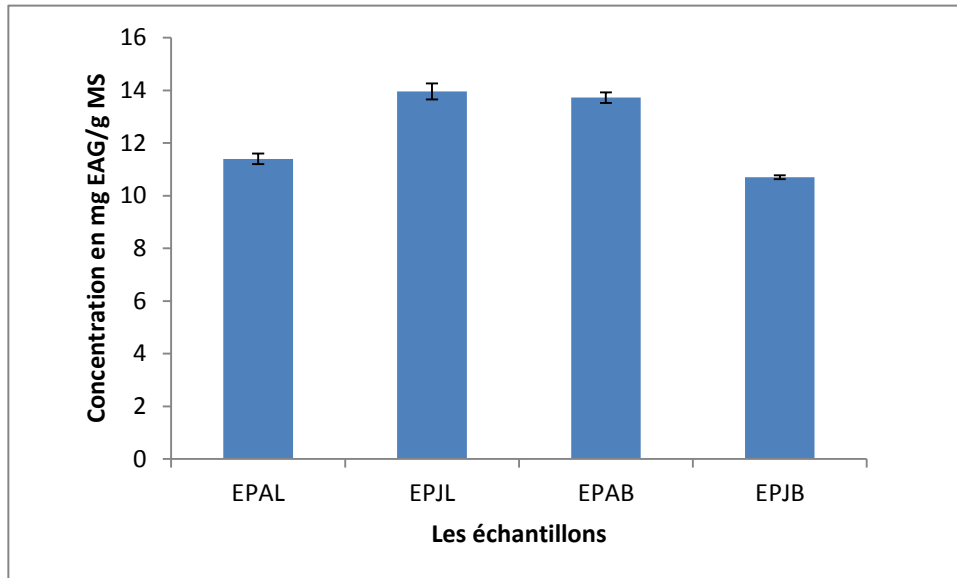


Figure 18. Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits.

EPAL : extrait de peau de cladode adulte de Larbaa Nathe Irathen,

EPJL : extrait de peau de cladode jeune de Larbaa Nathe Irathen,

EPAB : extrait de peau de cladode adulte de Bouhinoune,

EPJB : extrait de peau de cladode jeune de Bouhinoune.

Les résultats de El-Hawary et *al* (2020) réalisé avec une extraction méthanolique ont donné des valeurs plus importantes 236.5 mg EAG/g d'extrait sec, la teneur en phénols est bien plus supérieure aux présents résultats, une extraction à base de méthanol a donné un meilleurs rendement par apport à la présente étude, ceci peut être dû à la différence de protocole et de solvant utilisé.

III.5 Test des activités antioxydantes

III.5.1 Activité Scavenger au radical ABTS

Les résultats obtenus sont résumés la figure 19. La valeur IC50 désigne la concentration en polyphénols (mg/ml) nécessaire pour inhiber 50% du radical ABTS•+.

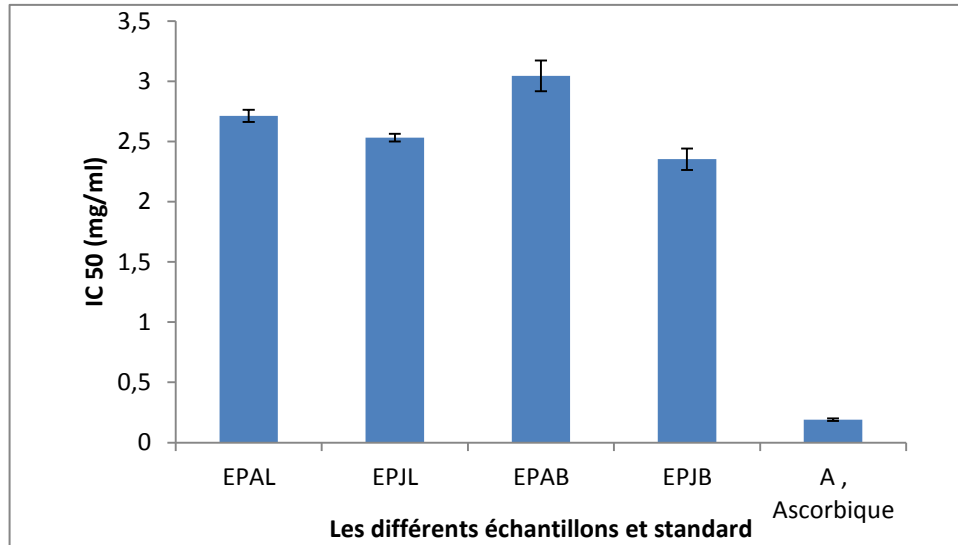


Figure 19. Les IC₅₀ des différents extraits phénoliques et standard donnés par le test à l'ABTS

EPAL : extrait de peau de cladode adulte de Larbaa Nath Irathen,

EPJL : extrait de peau de cladode jeune de Larbaa Nath Irathen,

EPAB : extrait de peau de cladode adulte de Bouhinoune,

EPJB : extrait de peau de cladode jeune de Bouhinoune.

Les extraits de cladodes du figuier de barbarie présentent des activités anti-radicalaires moins importantes que celles rapportées par BOUTAKIOUT (2015), estimé par une valeur d'IC₅₀ de 0,048mg/ml. Cette différence de l'activité antiradicalaire pourrait être attribuée au fait que nous avons utilisé des solvants de polarités différentes de celle du solvant utilisé par l'auteur (méthanol). L'acide ascorbique présente aussi une meilleure activité que celle des échantillons avec une valeur de 0.19 mg/ml comparé à l'échantillon EPJB qui présente une IC₅₀= 2.35±0.09 qui a le meilleurs taux d'inhibition et EPAB= 3.04±0.128 qui présente le taux d'inhibition le plus faible.

III.5.2 Test antiradicalaire avec le radical DPPH

Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH. Les valeurs obtenues sont représentées dans l'annexe 8. Les valeurs des IC₅₀ des différents extraits ont été déterminées graphiquement, il s'agit des concentrations qui

réduisent 50% des radicaux libres. Une valeur faible d'IC₅₀ indique une activité antioxydante forte.

L'extrait EPAB atteint presque son maximum d'activité à 0.97mg/ml avec un pourcentage d'inhibition (PI) de 48,33± 3%. Quant aux extraits EPJB, EPAL, EPCJL, leur PI sont plus importants et sont respectivement de l'ordre de 64 ±1% ; 68,66± 0,5% et 69±1% correspondant aux concentrations de 0.75 mg/ml , 0.95 mg/ ml et 0.98 mg/ml (figure 20).

L'acide ascorbique utilisé comme référence a inhibé de 97.71 ± 0.32 % le radical DPPH à 0.2 mg/ ml. Pour mieux estimer et comparer les résultats il est important de déterminer graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC₅₀), qui constitue l'efficacité et l'activité antioxydante des différents extraits étudiés.

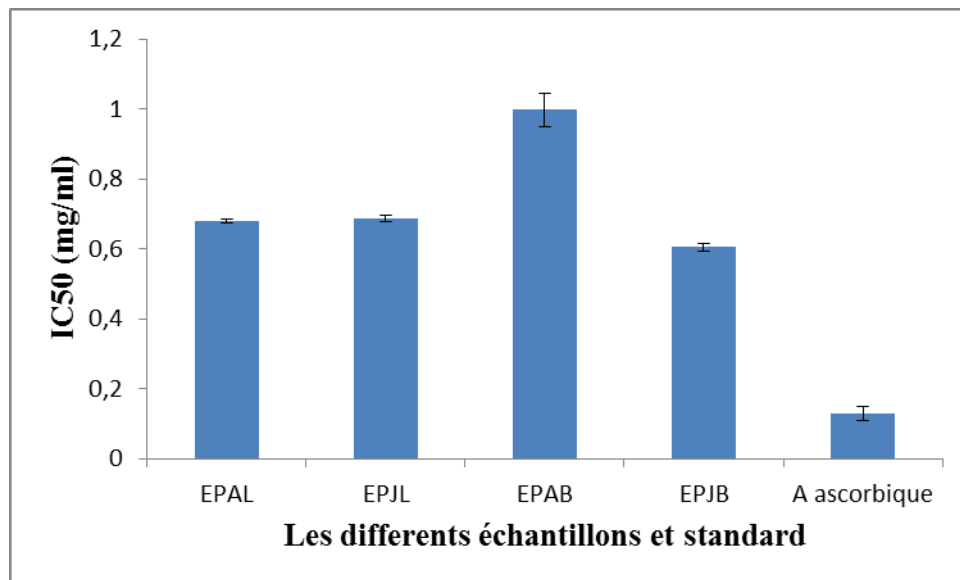


Figure 20. Les IC₅₀ des différents extraits phénoliques et standard donnés par le test DPPH

EPAL : extrait de peau de cladode adulte de Larbaa Nath Irathen.

EPJL : extrait de peau de cladode jeune de Larbaa Nath Irathen.

EPAB : extrait de peau de cladode adulte de Bouhinoune.

EPJB : extrait de peau de cladode jeune de Bouhinoune.

L'EPJB présente l'activité antiradicalaire la plus élevée avec une IC₅₀ de 0.605±0.012 mg/ml suivie de celles des extraits EPAL et EPJL avec des valeurs de 0.680± 0.005 mg/ml, 0.688±0.010 mg/ml. Tandis que l'extrait EPAB présente l'activité

antiradicalaire la plus faible avec une IC50 de 0.997 ± 0.047 mg/ml. Les extraits présentent une activité antioxydante faible comparativement à l'IC50 de l'acide ascorbique qui est de 0.13 mg/ml

Selon les résultats enregistrés, les extraits de cladodes du figuier de barbarie ont montré des valeurs des IC50 plus importantes que celle retrouvée par HALMI (2015) qui est de l'ordre de 0.309 mg/ml et donc une activité antioxydante plus faible. Cette différence d'activité pourrait être attribuée à l'utilisation de solvants différents de celui utilisé par l'auteur (méthanol). De plus, dans la présente étude seule la couche externe (peau) fut analysée pour sa teneur en polyphénols et l'activité antioxydante de ces derniers.

Par ailleurs, il est à préciser que l'extrait de mucilage non lavé (brut) présente une activité anti radicalaire à 19%, alors que celui qui a subi un lavage ne démontre aucune activité, cette activité est probablement liée aux pigments.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec le test au radical libre DPPH, avec des concentrations inhibitrices plus inférieures que celles obtenues par le test ABTS, cela peut être due au fait que le DPPH implique seulement le transfert d'électrons tandis que l'ABTS a pour avantage le transfert de protons H (Boutakiout., 2015).

Des études montrent que l'activité antiradicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales (Mariod *et al.*, 2009). Ceci mène à suggérer que l'effet antioxydant de différents extraits peut être dû à un synergisme entre les polyphénols avec d'autres composants.

III.6 Activités antimicrobienne

III.6.1 Évaluation de l'activité antibactérienne

La méthode de l'antibiogramme est utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des différents extraits de la peau de cladodes vis-à-vis de quatre souches : *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* MU 50, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922. La présence ou non de l'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition ou non d'une zone d'inhibition (zone claire autour du disque), le diamètre de cette dernière est estimé en millimètre (mm).

Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux 15 et 16, respectivement pour l'extrait à base d'éthanol et celui extrait à base de l'acétate d'éthyle.

Tableau 15. Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne ± écart type) exercées par les extraits éthanoliques vis-à-vis des souches testées.

Souche Extraits éthanoliques	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	<i>Staphylococcus aureus</i> MU 50	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Antibiotique	32 ± 2mm	23 ± 2mm	36 ± 4mm	6mm
EPAL	6mm	6mm	6mm	6mm
EPJL	6mm	6mm	6mm	6mm
EPAB	6mm	6mm	6mm	6mm
EPJB	6mm	6mm	6mm	6mm

EPAL : extrait de peau de cladode adulte de Larbaa Nath Irathen,

EPJL : extrait de peau de cladode jeune de Larbaa Nath Irathen,

EPAB : extrait de peau de cladode adulte de Bouhinoune,

EPJB : extrait de peau de cladode jeune de Bouhinoune

Tableau 16. Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne ± écart type) exercées par les extraits à base de l'acétate d'éthyle vis-à-vis des souches testées.

Souche Extraits d'acétate d'éthyle	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	<i>Staphylococcus aureus</i> MU 50	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Antibiotique	34 ± 3mm	27 ± 4mm	32 ± 4mm	18 ± 1mm
EPAL	6mm	6mm	6mm	6mm
EPAB	7 ± 1mm	6mm	6mm	6mm
EPJB	8 ± 1mm	6mm	7 ± 1mm	6mm

A partir des deux tableaux, certains extraits de peau de cladodes présentent une activité antibactérienne, vis-à-vis des souches de référence testées à savoir *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* MU 50, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922. Cependant, l'analyse des résultats obtenus démontre que les extraits à base d'acétate d'éthyle présentent une activité antibactérienne contrairement aux extraits éthanoliques qui n'exprime aucune activité vis-à-vis de ces souches.

Cependant, Rocchetti *et al.*, (2018) ont pu démontrer des activités positives pour des extraits éthanoliques et/ou méthanoliques vis-à-vis d' *E.coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus*

aureus ATCC 29213. De même, Gebrekidan et Aragaw (2017) ont affirmé que les extraits de cladodes et de fruits obtenus avec le chloroforme, le méthanol et l'éthanol, possèdent une grande activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Bacillus cereus ATCC 14579 est la souche qui présente une sensibilité aux extraits à base d'acétate d'éthyle en présentant des zone d'inhibition de diamètre 8 ± 1 mm pour l'EPJB et 7 ± 1 mm pour l'EPAB. Concernant l'EPAL, il ne présente aucune activité antibactérienne contre *Bacillus cereus* ATCC 14579. Ce test à montrer aussi que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 présente une légère sensibilité à l'extrait EPJB avec une zone d'inhibition de 7 ± 1 mm de diamètre, mais elle n'a montrée aucune sensibilité vis-à-vis des deux autres échantillons (EPAB, EPAL).

En ce qui concerne *Staphylococcus aureus* MU 50 et *Escherichia coli* ATCC 25922 celles-ci ne présentent aucune sensibilité aux extraits testés. De même, Benattia (2017) a observé que tous les extraits de raquettes se sont avérés inactifs contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* testées, car ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevé, alors que la bactérie *staphylococcus aureus* a manifesté une résistance relative vis-à-vis des extraits.

III.6.2 Evaluation de l'activité antifongique

Le pouvoir antifongique est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm) selon l'échelle cité par Mutai *et al.* (2009) ou par observation d'un changement dans le développement de l'espèce fongique. Les effets des extraits de la peau à base d'acétate d'éthyle sur les souches fongiques : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* après une semaine d'incubation à 28°C sont représentés dans le tableau 17.

Tableau 17. Résultats des tests des activités antifongiques des extraits à base d'acétate d'éthyle sur les champignons ciblés après une semaine d'incubation à 28°C

Champignon Échantillon	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus flavipes</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>
EPAL	-	-	-	-
EPAB	-	-	-	-
EPJB	-	-	-	-

EPAL : extrait de peau de cladode adulte de Larbaa Nath Irathen,

EPAB : extrait de peau de cladode adulte de Bouhinoune,

EPJB : extrait de peau de cladode jeune de Bouhinoune.

A partir du tableau 17 qui représente les résultats obtenus après incubation pendant une semaine à 28°C. Les extraits ne présentent aucune activité antifongique vis-à-vis des souches testées (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp) car aucune zone d'inhibition n'a été observée, mis à part pour *Aspergillus niger* ou on n'observe pas de zone d'inhibition, mais une décoloration remarquable du mycélium (figure 21). Ceci peut être expliqué par une certaine activité non identifiée qui induit l'apparition de cette anomalie lors du développement.

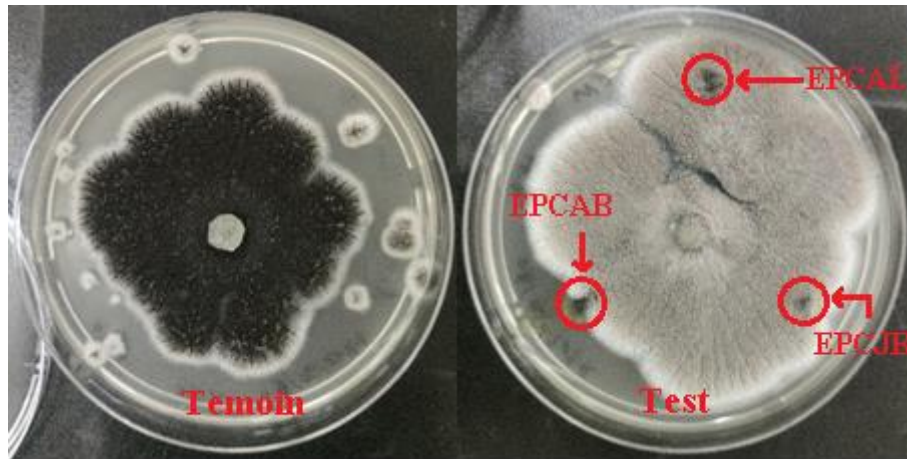


Figure 21. Résultat du test des extraits vis-à-vis de la souche d'*Aspergillus niger*

III.7 Production d'emballage comestible à base de polysaccharides extrait du mucilage de cladodes

L'extraction des polysaccharides avec l'éthanol (96%) a eu pour rendement 0.134% soit l'équivalent de 1.34 gramme de matière sèche. Le test de production d'emballage comestible à base de polysaccharide extrait du mucilage de cladode a été réalisée par le mélange de ce dernier avec du glycérol afin que le mélange se polymérise. La figure 22, représente le résultat obtenu après séchage et polymérisation du mélange.



Figure 22. Emballage obtenu après polymérisation du mélange (Polysaccharide extrait de mucilage et glycérol).

Le travail réalisé en suivant le protocole précédemment définie dans la figure 14 a permis l'obtention d'un emballage cassant et friable contrairement au résultat souhaité ayant comme caractéristiques la flexibilité et l'élasticité. Le résultat obtenu peut être dû à la présence de molécules contaminantes tels que les lipides, les protéines...etc, empêchant ainsi la polymérisation entière des polysaccharides extrait du mucilage.

Afin d'aboutir à un résultat optimal à savoir un emballage flexible et élastique, un perfectionnement du protocole d'extraction et de purification des polysaccharides contenus dans le mucilage des cladodes est nécessaire pour l'obtention d'un extrait pure. Il faudra peut-être essayer l'utilisation d'un autre agent de polymérisation autre que le glycérol tel que les ions de calcium " Ca^{2+} " (Seyed., 2019).

IV. Conclusion et perspectives

Le figuier de barbarie l'*Opuntia ficus indica* est une plante de la famille des Cactacées, elle est largement connue dans le monde. Ce végétale a fait l'objet de plusieurs études dans le monde entier ce qui lui confère une valeur intéressante dans divers domaines. De nos jours, la recherche scientifique, s'intéresse de plus en plus aux composés biologiquement actifs extraits des plantes, lesquelles sont considérées comme importantes source de composé chimique dont il faut en tirer profit afin d'y remédier à plusieurs pathologies causées par l'usage intensif des produits synthétiques.

A ce propos, nous nous sommes intéressées à l'étude des différentes propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques des polyphénols et aptitude technologique du mucilage de cladodes de l'espèce *Opuntia ficus indica* provenant de régions différentes à savoir Bouhinoune et Larbaa Nath Irathen à de stades de maturité distincts. C'est une plante qui a le pouvoir de vivre avec une quantité d'eau assez faible et de supporter de longue période de sécheresse ce qui explique la haute teneur en eau H% allant de $85,99 \pm 0,4\%$ à $94,87 \pm 0,16\%$ retrouvée dans tous les extraits. La teneur en cendres totale a été plus importante pour le mucilage extrait des cladodes adultes des deux régions précédemment citées. La teneur en composés phénoliques ne varie pas significativement entre les extraits dont la provenance et le stade de maturité sont différents.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par deux méthodes distinctes : le pouvoir antiradicalaire à l'ABTS et au radical DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique du cladode jeune de la région de Bouhinoune présente une meilleure activité antiradicalaire pour l'ABTS et le DPPH avec une IC50 de 2,35 mg/ml et de 0.605 mg/ml, respectivement pour les deux tests.

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur 4 souches bactériennes, selon la méthode de diffusion sur gélose. Les extraits des cladodes adultes et jeunes de la région de Bouhinoune expriment une légère activité antimicrobienne vis-à-vis de la souche *Bacillus cereus*, tandis qu'ils n'expriment aucun effet vis-à-vis des trois autres souches. Quant à l'activité antifongique, parmi les souches testées, seule *Aspergillus niger* a subi une décoloration du mycélium en présence des extraits. Enfin pour l'essai de production d'un emballage à base de polysaccharides extraits du mucilage des cladodes, celui-ci a permis l'obtention d'un résultat assez prometteur, qui reste à améliorer afin d'obtenir le résultat souhaité.

Les résultats obtenus lors de cette étude sont très encourageants sur le plan des activités anti-radicalaires. Ils affirment que les cladodes du cactus *Opuntia ficus indica* peuvent être une source potentielle de composés naturels bioactifs. Cependant des études et

travaux complémentaires seraient alors nécessaires pour améliorer les résultats et pouvoir isoler et identifier les molécules bioactives responsables des activités testées, sans oublier de prendre en considération les différents stades de maturation de la plante.

Il serait alors recommandé de :

- Purifier et procéder à la séparation des composés phénoliques afin de pouvoir les tester séparément pour identifier ceux qui sont actifs ;
- Tester d'autres protocoles d'extraction et mettre en évidence leur influence sur la composition chimique et les activités biologiques ;
- Etudier d'autres activités biologiques des différentes parties de cette plante.
- Améliorer le protocole d'extraction et de purification des polysaccharides afin d'obtenir un meilleur rendement et avoir un extrait pur.

V. Références

ABIDI S., BEN SALEM H., VASTA V. ET PRIOLO A. (2009). Supplementation with barley or spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. inermis) cladodes on digestion, growth and intramuscular fatty acid composition in sheep and goats receiving oaten hay. *Small Rumin. Res*, 87, 9–16.

AHMAD A., DAVIES J., RANDALL S. ET SKINNER GRc. (1996). Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. *Antiviral Res*, 30, 75-85.

ALIMI H., HFAIEDH N., BOUONI Z., HFAIEDH M., SAKLY M., ZOURGUI L. ET RHOUMA K.B., (2010). Antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. inermis root extract in rats. *Phytomedicine* ,17, 1120-1126.

Aragona, M., Lauriano, E., Pergolizzi, S., and Faggio, C. (2018). *Opuntia ficus-indica* (L.) miller as a source of bioactivity compounds for health and nutrition. *Natural product research*, 32(17), 2037–2049

ARBA M., (2009). Le cactus *Opuntia*, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. *Sym. Inter. Agriculture durable en région Méditerranéenne (ADUMED)*, 215-222.

BATHAIE S., BOLHASSANI A. ET KHAVARI A. (2013). Saffron and natural carotenoids Biochemical Activities and anti-tumor effects. *Biochimia and Biophysica Acta* ,1845, 20-30.

BENATTIA F.K. (2017). Analyse et application des extraits de pépins de figes de barbarie. Thèse de doctorat en chimie bio-organique et thérapeutique. Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen, Algérie.

BEN-THLIJA A., (1987). Nutritional value of several *Opuntia* species. Master Thesis, Oregon State University, Corvallis/USA.

BOUTAKIOUT A. (2015). Etude physicochimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode de figuier de barbarie marocain (*Opuntia ficus indica* et *Opuntia megacantha*). Thèse de doctorat. Nantes Angers. France.

BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E. ET BERSET C., (1995) Use of a free Radical Method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss.u-Technol*,28,25-30.

BRAHMI FATIHA., FEDERICA BLANDO.,REDHA SELLAMI., SABRINA MEHDI., LUIGI DE BELLIS., CARMINE NEGRO., HAYATE HADDADI-GUEMGHAR., KHODIR MADANI. ET LILA MAKHLOUF-BOULEKBACHE (2022). Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures *Industrial Crops & Products*, 184, 114977.

BRUCKNER H. ET WESTHAUSER T. (2003). Chromatographic determination of L- and D-amino acids in plants. *Amino Acids*, 24, 43–55.

CAVALLO., H CHARDON., CJ SOUSSY. ET AL. (2007) Communiqué du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

DEL VALL V., HERNANDEZ MUNOZ P., GUARDA A. ET GALOTTO M.J. (2005). Development of a cactus mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaraananassa*) shelf-life. *Food chemistry*, 91, 571-756.

DOK-GO H., LEE KH, KIM HJ, LEE EH, SONG JLY., LEE YH., JIN C. ET AL. (2003).Neuroprotective effects of antioxidative flavonoid, quercetin, (1)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Brain Research*, 965, 130–136.

EI-HAWARY.S.,MANSOURSOBEH., WAFAA K. BADR., MOHAMED A.O. ABDELFATTAH., ZEINAB Y. ALI MONA E. EL-TANTAWY, MOHAMED A.RABEH. ET MICHAEL WINK. (2020).HPLC-PDA-MS/MS profiling of secondary metabolites from

Opuntia ficus-indica cladode, peel and fruit pulp extracts and their antioxidant, neuroprotective effect in rats with aluminum chloride induced neurotoxicity. Saudi Journal of Biological Sciences, 27, 2829–2838.

EL-MOSTAFA K., EL KHARRASSI Y., BADREDDINE A., ANDREOLETTI P., VAMECQ J., EL KEBBAJ M.S., LATRUFFE N., LIZARD G., NASSER B. ET CHERKAOUI-MALKI M.(2014). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. Molecules, 19, 14879-14901.

ENNOURI M., FETOUI H., BOURRET E., ZEGHAL N., GUERMAZI F. AND ATTIA H., (2006). Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*: 1. Influence of seed supplemented diet on rats. Bio resource Technology, 97, 2136-2140.

ESPINO-DIAZ, M.ÿ., DE JESUSORNELAS-PAZ, J., MARTINEZ-TELLEZ, MAÿ., SANTILLAN, C., BARBOSA-CANOVAS, GVÿ., ZAMUDIO-FLORES, PBÿ. ET OLIVAS, GI. (2010). Développement et caractérisation de films comestibles à base de mucilage d'*Opuntia ficus-indica* (L.). J. Food Sci, 75, E347–E352. [Référence croisée] [Pub Med] 27.

FAVIER A. (2003) Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique.108-115.

FERNANDEZ M.L., TREJO A. ET MCNAMARA D.J. (1990). Pectin isolated From Prickly pear (*Opuntia* sp) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. J. Nutr, 120, 1283-1290.

FILANNINO P., CAVOSKI I., THLIEN N., VINCENTINI O., DE ANGELIS M., SILANO M., GOBBETTİM. ET DI CAGNO1 R. (2016). Lactic acid fermentation of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica* L.) generates flavonoid derivatives with antioxidant and anti-inflammatory properties. PLoS ONE, 11(3), e0152575.

FORNI, E., PENCI, M., AND POLESELLO, A. (1994). A preliminary characterization of

some pectins from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.) and prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) peel. *Carbohydrate Polymers*, 23 (4), 231–234.

FOTSING, M. (2005). Etude phytochimique et des activités biologiques de *Maerua angolensis* DC. (Capparidaceae). PhD thesis, Thèse de Pharmacie, FMPOS, Bamako, 103p.

GALATI EM., PERGOLIZZI N., MICELI MT., MONFORTE MM. ET TRIPODO. (2002). Study on the increment of the production of gastric mucus in rates treated with *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. *Cladodes*. *J Ethnopharmacology*, 83, 229- 233.

GEBREKIDAN W. et ARAGAW Z. (2017). Antibacterial activity of *Opuntia ficus indica* skin fruit extracts. *Biotechnology International*, 10 (3), 74-83.

GILGUN-SHERKI, Y., MELAMED, E. ET AND OFFEN, D. (2001). Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, 40, 959-975.

GINESTRA, G., PARKER, M. L., BENNETT, R. N., ROBERTSON, J., MANDALARI, G., NARBAD, A., LO CURTO, R. B., BISIGNANO, G., FAULDS, C. B. ET AND WALDRON, K. W. (2009). Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(21), 10323–10330.

GRAMZA, A. AND KORCZAK, J. (2005). Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends in food science & technology*, 16, 351-358.

GÜLÇİN I., OKTAY M., KIRREÇCI E. ET KUFREVİOĞLU O. I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83:371-381.

HALMI S. (2015). Etude botanique et phytochimiques : Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat. Frères Mentouri de Constantine. Algérie.

HADJ SADOK T. (2010). Composition chimique des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica* et possibilités de valorisation alimentaire. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Algérie.

HUANG D., OU B., PRIOR R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

LORO JF., RIO I. ET PEREZ-SANTANA L.(1999). Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. *J Ethnopharmacol*, 67,213-8
MADHAN, B.,KRISHNAMOORTHY,G., RAO, J. R., AND NAIR, B. U. (2007). Role of green tea polyphenols in the inhibition of collagenolytic activity by collagenase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 41, 16-22.

MARIOD A.A., IBRAHIM R.M., ISMAIL M. ET ISMAIL N.(2009). Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, 306-312.

MAJDOUB, H., ROUDESLI, S. ET DERATANI, A. (2001). Polysaccharides d'écorce de figue de barbarie et de nopals d'*Opuntia ficus- indica* : extraction, caractérisation et comportement des polyélectrolytes. *Polymer International*, 50 (5), 552–560.

MOLYNEUX P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26 (2), 211-219.
MULAS M. ET MULAS G. (2004). Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short and medium-term priority environmental action programme (SMAP). Université des études de Sassari; groupe de recherche sur la désertification, Italie. P112.

NEFZAOU, A., BEN SALEM, H. ET FORAGE.(2002). Fodder and animal nutrition. Nobel, P. S. Cacti. Biology and Uses, University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London, 199–210.

- Nobel, P. S. (2002). *Cacti: biology and uses*. University of California Press.
- PARK, E.H., KAHNG, J.H. ET PAEK, E.A. (1998). Studies on the pharmacological actions of cactus: identification of its anti-inflammatory effect. *Arch. Pharm. Res*, 21, 30–34.
- PIGA, A. (2004). Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 6, 9-22.
- PINCEMAIL, J., DEFRAIGNE, J. O., MEURISSE, M., AND LIMET, R. (1998). Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires 2ème partie: la vitamine E. *Medi sphere*, 90.
- RABEMANATSOA N.A. (2010). Action pour une meilleure valorisation des cactus *Opuntia*. Mémoire d'ingénieur, Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Antananarivo Madagascar, 45p.
- REBAH, BEN, AND SM SIDDEEG.(2017). Cactus an eco-friendly material for wastewater treatment: A review. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(5),1770–1782,.
- RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M. ET RICE-EVANS C.(1999).Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay.*Free radical biology&medicine*,26 (9/1), 1231–1237.
- RETAMAL N. DURAN J. M., FERNANDEZ J. (1987). Seasonal variations of chemical composition in prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) Miller. *J. Sci.Food Agric*, 38, 303–311.
- REYES-AGUERO J.A., AGUIRRE J.R. ET VALIENTE-BANUET A. (2006). Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments*, 64, 549-585.
- ROCCHETTI, G., PELLIZZONI, M., MONTESANO, D. AND LUCINI, L. (2018). Italian *Opuntia ficus-indica* Cladodes as Rich Source of Bioactive Compounds with Health Promoting Properties. *Foods*, 7, 24.

SAENZ, C., BERGER, H., RODRIGUEZ-FELIX, A. ET AL. (2013). Valorisation agro-industrielle du figuier de Barbarie. Rome : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

SAENZ, C., SEPULVEDA, E. AND MATSUHIRO, B. (2004). Opuntia spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives. Journal of Arid Environments, 57(3),275–290.

SEYED M.A, RAZAVI. (2019),Emerging natural hydrocolloids: Rheology and Functions. Willy, chap 17, page 425, Karadj.

SCHWEIZER, M. (1997). Docteur Nopal : le médecin du bon Dieu. APB,Aloe plantes et beauté.

SUTTON B. G.,TING I. P. ET SUTTON R. (1981). Carbohydrate metabolism of cactus in a desert environment. Plant Physiol.,68, 784–787.

SREEKANTH D.,ARUNASREE MK, ROY KR., REDDY TC, REDDY GV. ET REDDANNA P. BETANIN A betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. Phytomedicine 2007, 14, 739-46.

STINTZING F.C. ET CARLE R. (2005).Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. Mol. Nutr. Food Res, 49, 175-194.

TANG S. Y. ET HALLIWELL B. (2010). Medicinal plants and antioxydants : What do we learn from cell cultur and caenorhabditiselegans studies Biochemical and biophysical Resherch Communications, 394, 1-5.

TILAHUN.,YEMANE.AND GEBREKIDAN WELEGERIMA.(2018) Pharmacological potential of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) : A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(3) ,1360–1363.

TIMPARANO, G ET FOTI, V. (2014). Les caractéristiques structurelles, les performances économiques et les perspectives de la filière italienne de la poire de cactus. Journal de l'association professionnelle pour le développement des cactus,16, 32/50.

VALLES.A. ET ROLDAN J. (1995). A. The nopal: a plant of manifold qualities. World Rev. Nutr. Dietetics, 77, 109–134.

WANG J.N., CHEN Y.J., HANO Y., TARO N. ET TAN R.X.(2000). Antioxidant activity of polyphenols from seeds of *Vitis amurensis* in vitro. Acta Pharm. Sinic, 21, 633-636.

WALLACE R.S. AND GIBSON A.C.(2002). Cacti evolution and systematics in: Cacti, Biology and Uses,1-21 (Nobel, P.S. ed.). University of California Press, Berkeley, California,United States of America.

WILKINSON J.M. (2006). Methods for testing the antimicrobial activity of extracts.Modern Phytomedicine, 157-165.

WIESE J, MD., MCPHERSON S MD., ODDEN MC BS., SHLIPAK M G, MD, MPH. (2004).Effect of *Opuntia ficus indica* on Symptoms of the Alcohol Hangover. ARCH INTERN MED,164, 1334-1340

Site web.

Anonyme 1: <https://www.alamy.com/stock-photo-cactus-opuntia-ficus-indica-mill-origin-mexico-park-borely-marseille-33531053.html?imageid=9E77BF9B-A2E8-4E73-A2BA-6808203F2521&p=77314&pn=1&searchId=1c166f4ce9b8f1dd25cacd0b666f7c82&searchtype=0>

Anonyme 2: <https://www.alamy.com/stock-photo-opuntia-sp-specimen-cactaceae-detail-of-a-cladode-133261544.html?imageid=A3EEEA64-5F3C-4258-8C45-3E509A4AA09E&p=266101&pn=1&searchId=80f1fc4b94745c6cdc79555c3dcf85ce&searchtype=0>

Anonyme 3: <https://www.visoflora.com/photos-nature/photo-fleur-de-figuier-de-barbarie.html>.

Anonyme 4 :

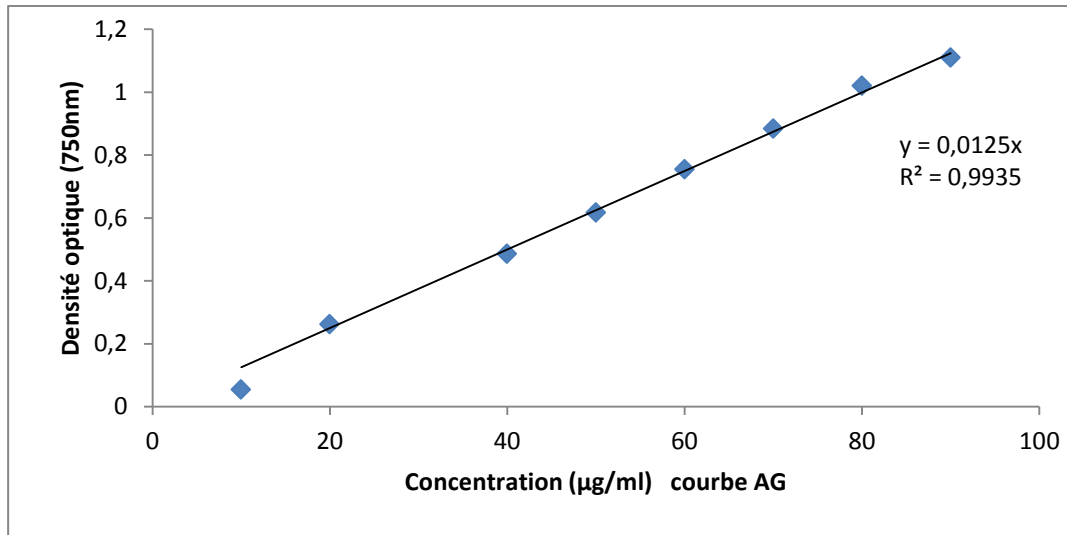
https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Figuier_de_Barbarie#/media/Fichier:Opuntia_ficus-indica_3.jp

Anonyme 5: <https://www.maison-gourmande.com/figue-de-barbarie.html>

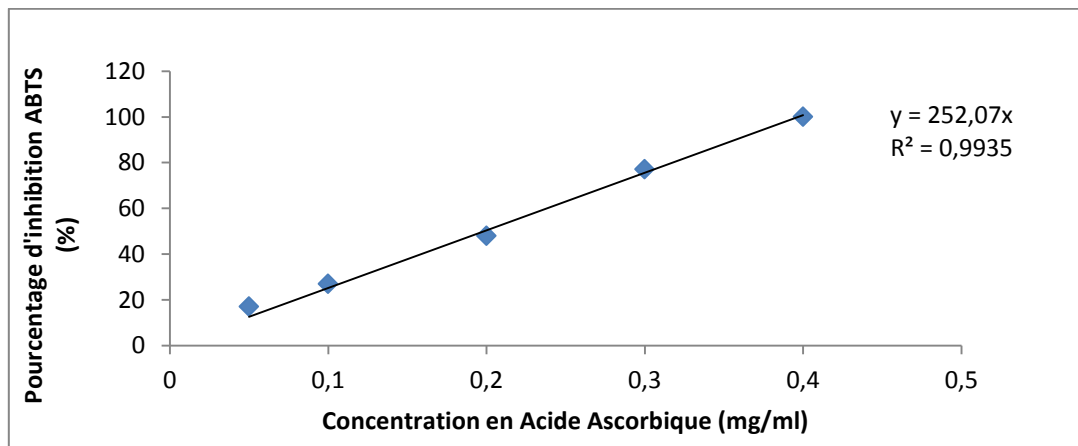
Anonyme 6: <https://www.hebedesandes.com/lorac-et-les-radicaux-libres/radicaux-libres/>

Anonyme 7: <https://fr.dreamstime.com/diagramme-chimique-montrant-l-électron-antioxydant-dinates-radical-libre-image133623233>.

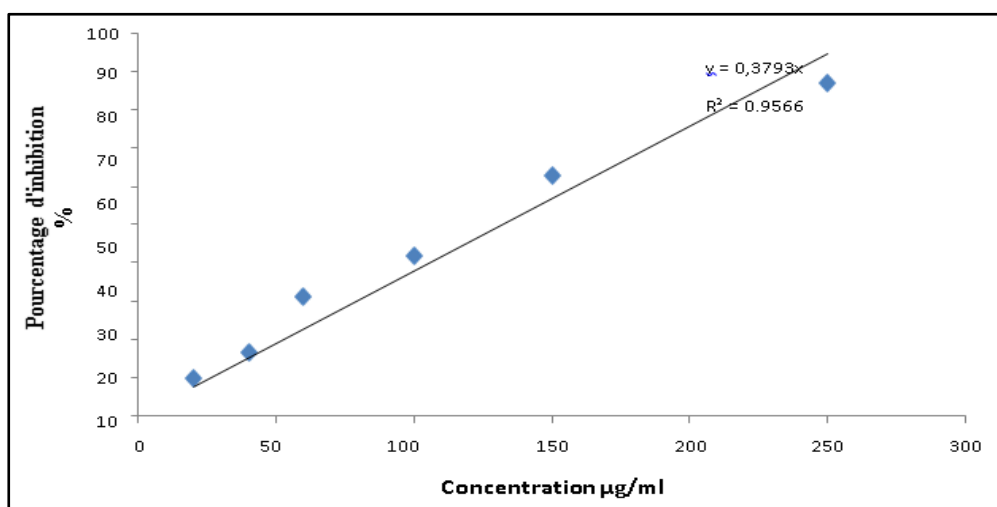
ANNEXES



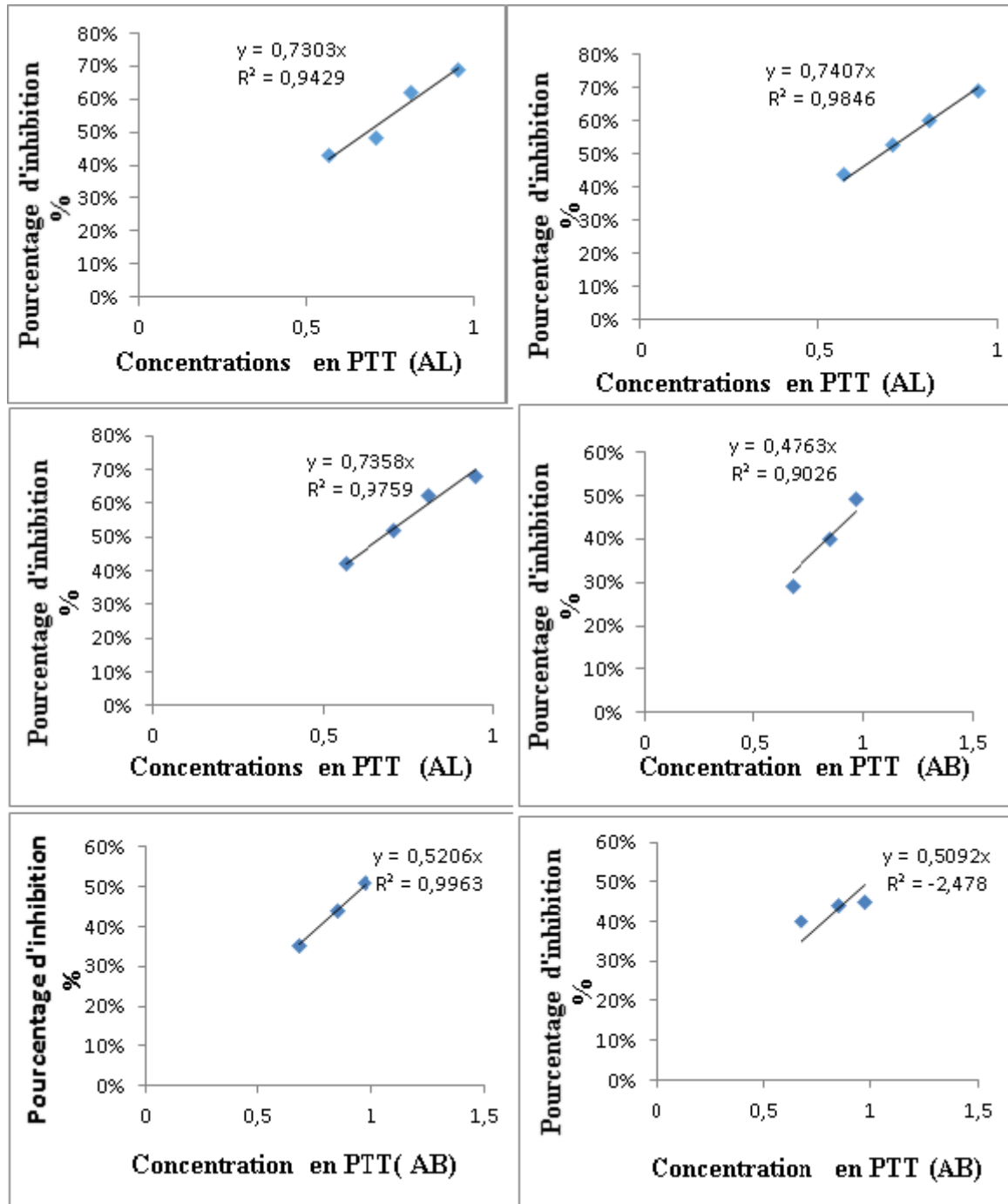
Annexe 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



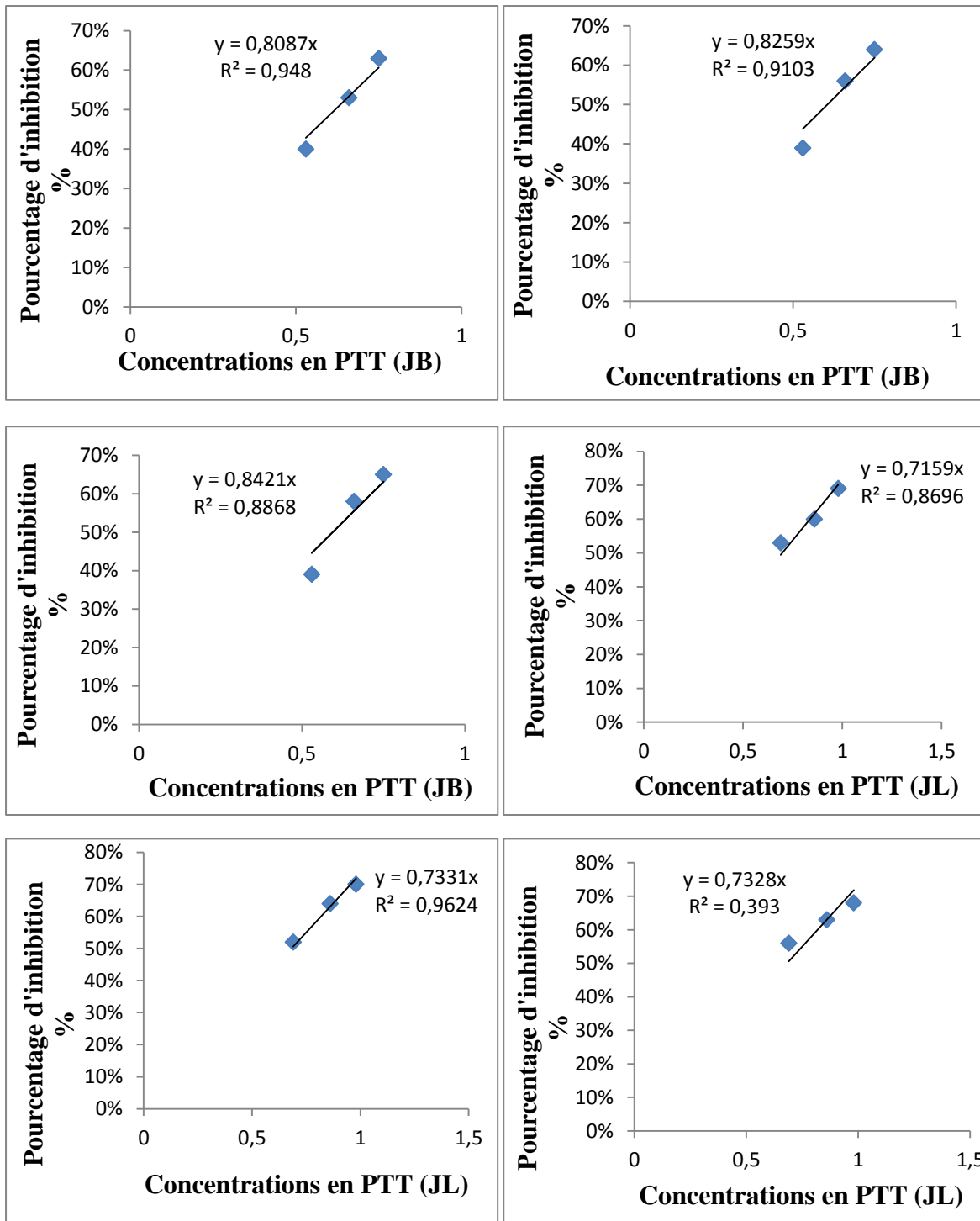
Annexe 2. Courbe d'étalonnage de l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique avec l'ABTS



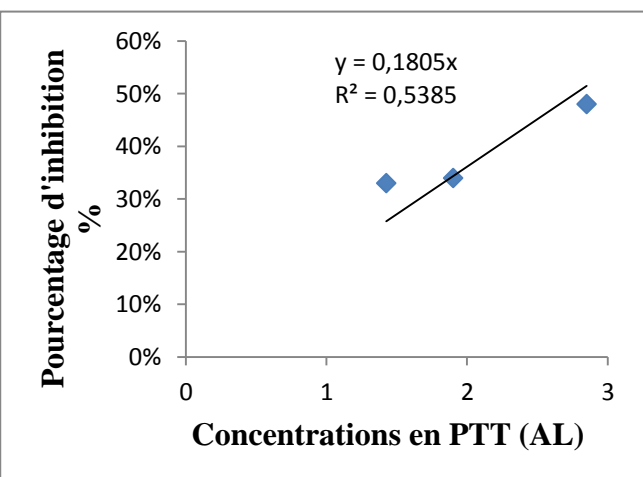
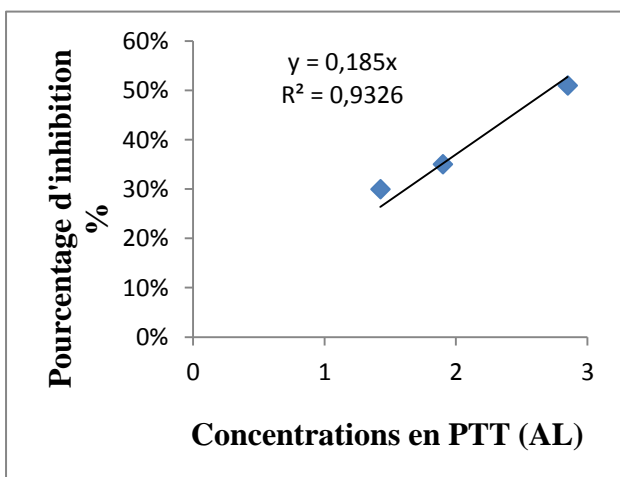
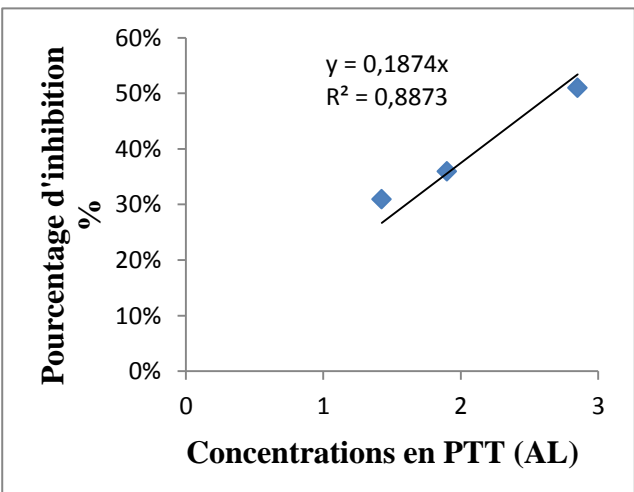
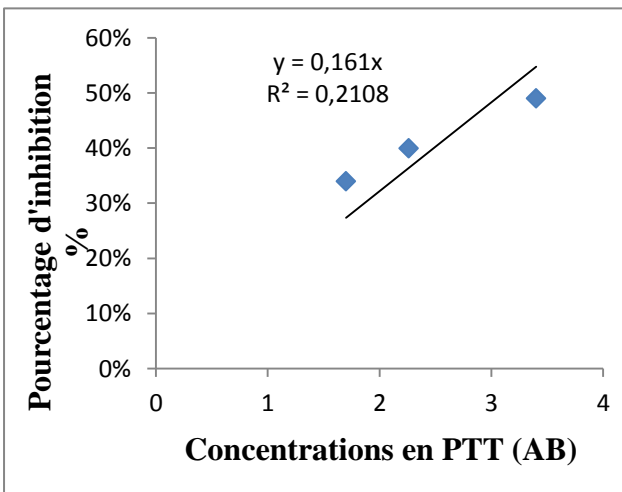
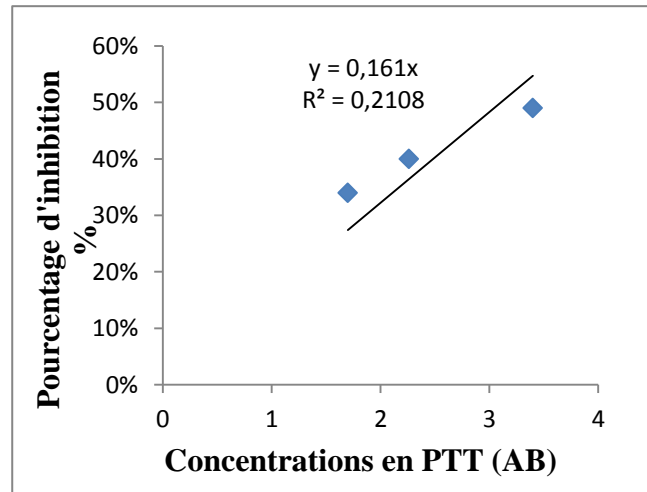
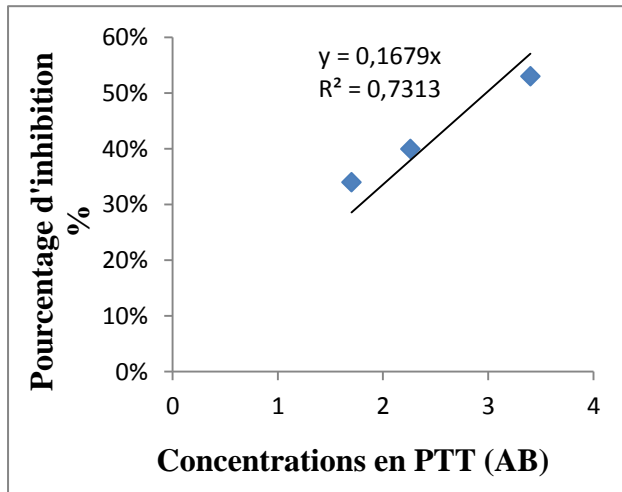
Annexe 3. Courbe d'étalonnage de l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique avec le réactif DPPH



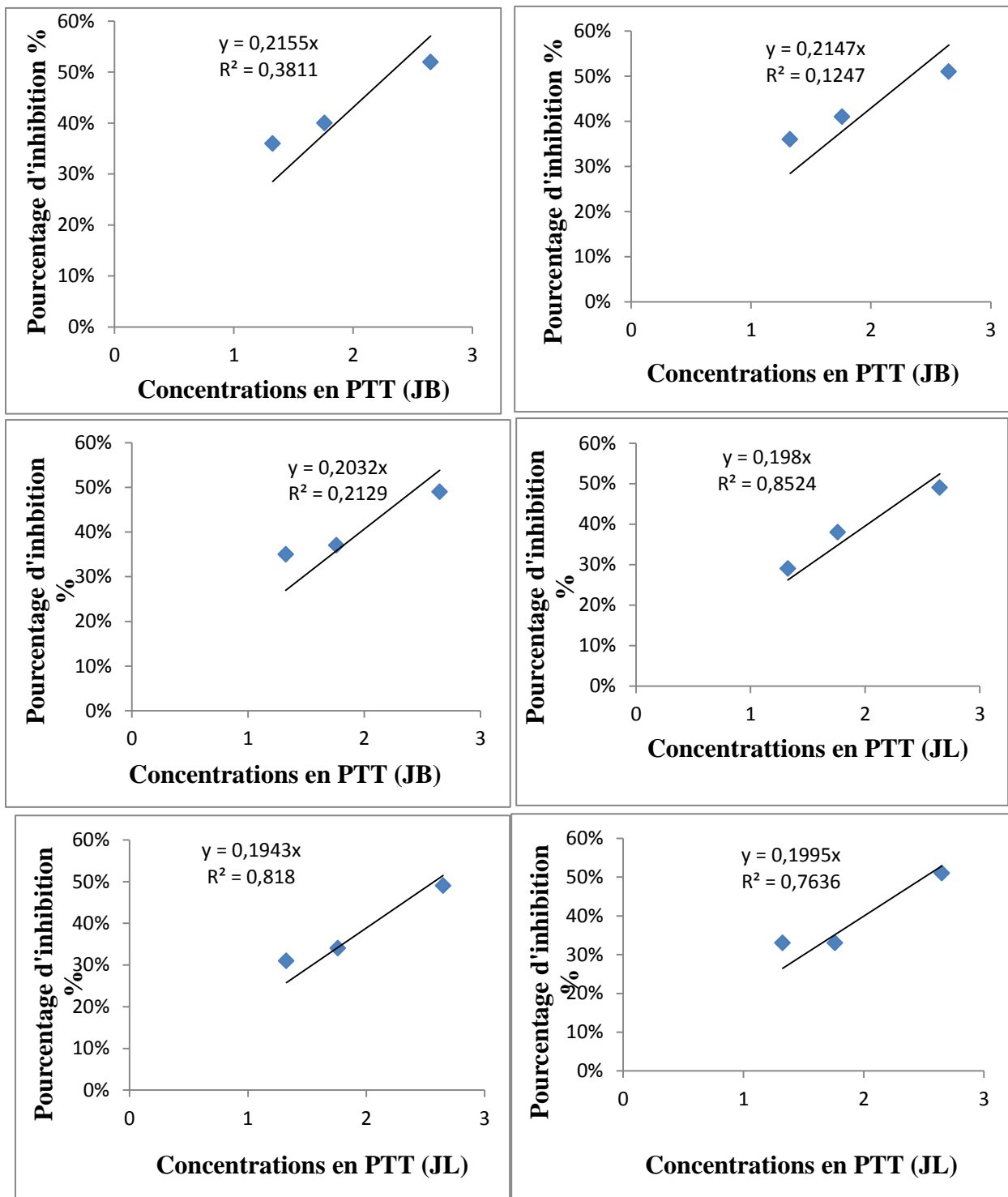
Annexe 4. Résultats obtenus des tests d'activité antiradicalaire DPPH des extraits de peau du cladode adulte des deux régions BOUHINOUNE et LARBAA NATH IRATHEN



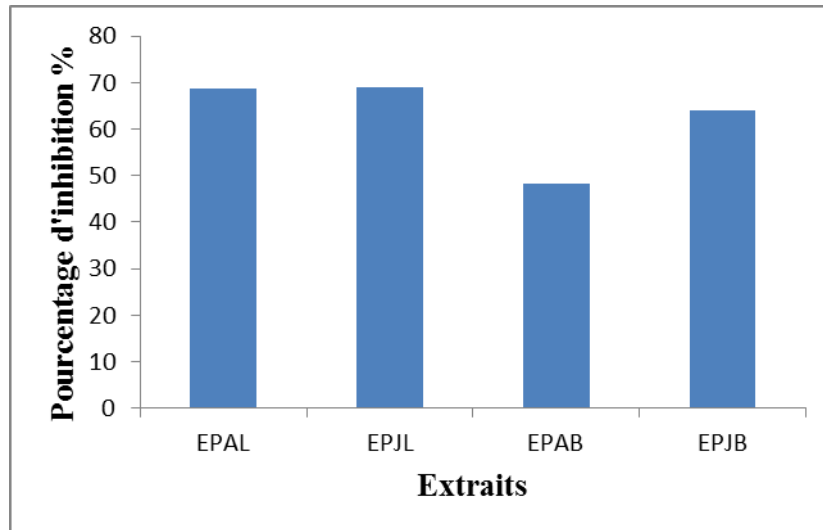
Annexe 5. Résultats obtenu des tests d'activité antiradicalaire DPPH des extraits de peau du cladode jeune des deux régions BOUHINOUNE et LARBAA NATH IRATHEN



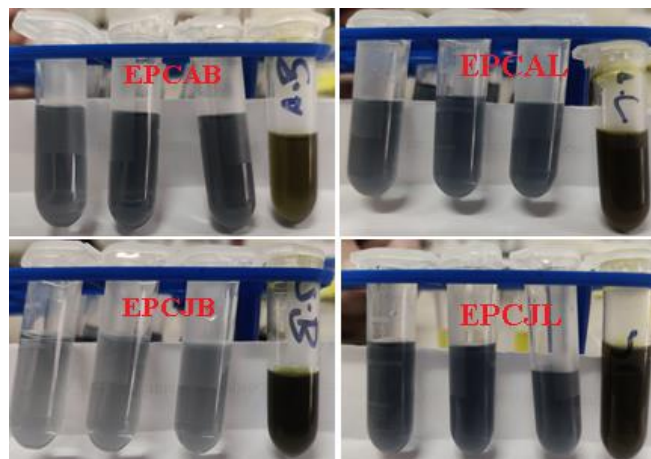
Annexe 6. Résultats obtenu des tests d'activité antiradicalaire ABTS des extraits de peau du cladode adulte des deux régions BOUHINOUNE et LARBAA NATH IRATHEN



Annexe 7. Résultats obtenus des tests d'activité antiradicalaire ABTS des extraits de peau du cladode jeune des deux régions BOUHINOUNE et LARBAA NATH IRATHEN



Annexe 8. Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations de différents extraits d'*Opuntia ficus indica*



Annexe 9. Dosage des phénols totaux des extraits de la peau



Annexe 12. Extrait de mucilage avant et après chauffage



Annexe 13. Résultats obtenus après passage des échantillons de peau et mucilage au four à moufle