



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 Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de diplôme de Master Académique en science de la nature et de la vie

Filière : Science Biotechnologique

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Extraction et Caractérisation physico-
chimiques et biologiques des Substances de la
Pelure de la Banane Cavendish *Musa
acuminata* AAA**

Travail réalisé par :

M^{elle} : SALI Nadia

M^{elle} : AIT Aoudia Samira

Proposé et dirigé par :

M^{me} BENAHMED DJILALI Adiba

Maître de Conférences classe (A) à l'U.M.M.T.O

Devant le jury :

Présidente : M^{elle} HELLAL Zohra

Maître Assistante classe (A) à l'U.M.M.T.O

Examineur : M^r SEBANE Hillal

Maître Assistant classe (A) à l'U.M.M.T.O

Année : 2017/2018

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à Mme BENAHMED DJILALI Adiba, Maître de Conférences (A) à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université de Tizi Ouzou pour avoir proposé et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle m'a accordé m'ont permis d'achever ce travail.

A tout le personnel du laboratoire du Département de Microbiologie-Biochimie
Pour leur sympathique accueil et toute sa bonne collaboration. Je vous prie d'agréer l'expression de ma profonde gratitude.

Aux membres du jury. Veuillez agréer, chers Maîtres, l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre profond respect.

A tous les enseignants de l'UMMTO

A la famille SALI et AIT AOUDIA

Tous mes sincères remerciements aux responsables des Laboratoires de Recherche à l'Université de Boumerdès (Unité de Recherche et laboratoire de Chimie pharmaceutique) d'avoir m'accorder de réaliser des analyses rhéologiques et d'extraction de la matière grasse.

A mes amis (es) : Trouvez ici l'expression de ma sincère admiration.

Je suis très reconnaissante envers toute personne, qui m'a aidé à réaliser ce travail

Dédicace

A mon père :

Homme très brave et subtil ; Ce travail est pour toi l'une des consécration de l'amour que tu as su donner à tes enfants pour faire d'eux des véritables hommes et femmes. Je ne pourrais trouver d'expression pour te remercier pour tout ton soutien constant de père engagé et conscient de ses devoirs. Tu as toujours fait montre des talents d'éducateur et communicateur plein d'initiatives constructives. Puisse Dieu le tout puissant te donner beaucoup de chance, longue vie et te permettre de bénéficier de tes hauts faits.

A ma mère :

Courageuse et infatigable, tu es pour moi la mère idéale. Reçois ce travail comme une des récompenses de tes multiples sacrifices ; j'espère qu'il fera davantage jaillir en toi la force de l'avenir. Puisse Dieu le tout puissant te permettre de vivre longtemps près de nous.

A ma grande – mère :

Pour sa tendresse et son indéfectible attachement à ma cause, ses conseils et ses encouragements.

A mes sœurs et frères :

Je sais la fierté que vous portez à mon égard, je tiens donc à vous exprimer mes sentiments fraternels. Je suis sûr que ce travail vous montre la voie à suivre.

A mes oncles et Tantes et leurs fils et filles

Pour le soutien et la confiance qu'ils m'ont toujours apportée tout le long de mes études.

A mon amie chérie :

Plus particulièrement à Kahina Pour l'attention particulière que tu m'as toujours portée et aide inconditionnelle dans la réalisation de ce travail.

SALI Nadia

Dédicace

A mon père :

Homme très brave et subtil ; Ce travail est pour toi l'une des consécration de l'amour que tu as su donner à tes enfants pour faire d'eux des véritables hommes et femmes. Je ne pourrais trouver d'expression pour te remercier pour tout ton soutien constant de père engagé et conscient de ses devoirs. Tu as toujours fait montre des talents d'éducateur et communicateur plein d'initiatives constructives. Puisse Dieu le tout puissant te donner beaucoup de chance, longue vie et te permettre de bénéficier de tes hauts faits.

A ma mère :

Courageuse et infatigable, tu es pour moi la mère idéale. Reçois ce travail comme une des récompenses de tes multiples sacrifices ; j'espère qu'il fera davantage jaillir en toi la force de l'avenir. Puisse Dieu le tout puissant te permettre de vivre longtemps près de nous.

A ma grande – mère :

Pour sa tendresse et son indéfectible attachement à ma cause, ses conseils et ses encouragements.

A mes sœurs et frères :

Je sais la fierté que vous portez à mon égard, je tiens donc à vous exprimer mes sentiments fraternels. Je suis sûr que ce travail vous montre la voie à suivre.

A mes oncles et Tantes et leurs fils et filles

Pour le soutien et la confiance qu'ils m'ont toujours apportée tout le long de mes études.

A mon amie chérie :

Plus particulièrement à Lamia Pour l'attention particulière que tu m'as toujours portée et aide inconditionnelle dans la réalisation de ce travail.

AITAOUDIA Samira

Résumé

La présente étude a particulièrement pour but de caractériser les molécules bioactives contenant la poudre de la pelure de la banane *Musa acumunata* AAA.

La première étape de ce travail consiste à faire le screening photochimique de la poudre de la pelure séchée qui révèle la présence de certaines substances telles que les tanins, les flavonoïdes, les coumarines et les glucosides. Les résultats obtenus démontrent que cette pelure est particulièrement intéressante par son fort pouvoir antioxydant du à leur richesse en substances anti oxydantes et anti microbienne tels que les poly phénols, les flavonoïdes et les tanins.

En second lieu, les paramètres physico-chimiques de la pelure ont été évalués afin de déterminer la teneur en eau, l'acidité et la teneur en cendres dont les résultats sont ($3,22 \pm 2,64$) ; ($0,209 \pm 0,074$) et ($12 \pm 0,04$) respectivement, ce dernier résultat explique la richesse de la pelure en éléments minéraux tels que le sodium et le potassium. Plusieurs dosages ont été réalisés, le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et le dosage des sucres dont la teneur en polyphénols est supérieur à celle des flavonoïdes avec une valeur de ($123,83 \pm 1,24 \mu\text{g/EAG/ gMS}$) ; ($78,8 \pm 1,81 \mu\text{g/EQ/g}$) respectivement. Les sucres sont présents en quantité assez importante avec une valeur de ($28.77 \pm 0,88 \text{ g/l}$ pour les sucres totaux, $26,41 \text{ g/l}$ de saccharose).

Nos résultats ont permis de trouver que les tanins, détient un fort pouvoir antimicrobien avec une zone d'inhibition de 25 à 35 mm de diamètre et inhibent la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger* aussi que les extraits éthanoliques des polysaccharides et des polyphénols avec un diamètre de la zone d'inhibition comprise entre 15 et 20 mm. Mais ils n'avaient aucun effet vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus*.

Les mots clés : Molécules bioactives, *Musa acumunata*, pelure, substances anti-oxydantes et antimicrobiennes.

Abstract

The aim of this study is to characterize the bioactive molecules containing banana peel powder *Musa acumunata* AAA

the first step of this work consists in the photochemical screening of the powder of the dried peel which reveals the presence of some substances such as tannins, flavonoides, coumarins and glucosides. The results obtained demonstrate that this cavendish banana peel is particularly interesting because of its high antioxidant power due to its rich anti-oxidant and anti-microbial substances such as polyphenols, flavonoids and tannins.

Secondly, the physico-chemical parameters of the peel were evaluated in order to determine the water content, the acidity and the ash content whose results are 3,22, \pm 2,64) ;(0,209 \pm 0,074) and (12 \pm 0,04) respectively, this last result explains the richness of the peel in mineral elements such as sodium and potassium. Several assays are also performed, the dosage of polyphenols, flavonoids and dosage of sugars whose polyphenol content is higher than that of flavonoids with a value of (123,83 \pm 1,24 μ g/EAG/ gMS) ;(78.8 \pm 1,81 μ g/EQ/g) the sugars are present in a rather large quantity with a value of (28,77 \pm 0,88 g/l) for the total sugars, 26,41 g/l of sucrose).

Concerning the antimicrobial activity made by the discarded by the four strains studied. Our results show that the tannins have a high antimicrobial capacity with an inhibition zone of 25 to 35 mm in diameter and inhibit mycelial growth. *Aspergillus niger* as well as the ethanolic extracts of polysaccharides and polyphenols with a diameter of the inhibition zone of between 15 and 20 mm. But they had no effect on the *staphylococcus aureus*.

Key words : Bioactive molecule, *Musa acumunata* peel, antioxidant and antimicrobial substances.

Liste des abréviations

° C : degré Celsius

µg EAG/g MS : microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche

µg EQ/g MS : microgramme d'équivalent de quercétine par gramme de la matière sèche

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism.

DO: Densité optique

H : Humidité

IG: Indice de gonflement

M : masse prélevé en gramme

MG: Matière grasse

MH: Mueller Hinton

MO: Matière organique

MS : Matière sèche

P : masse de la prise d'essai

PDA: Petatos Dextrose Agar

R(%) : rendement en pourcentage

TC: Teneur en cendres

V : volume de la prise d'essai

TABLE DES MATIERES

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale..... 1

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le bananier

I -1- Origine et diversité génétique 2

I -1-1- Origine 2

I -1-2- Classification..... 2

I -2- Généralités sur les Musacea 4

I -3- Ecologie de bananier 5

I -3-1- Besoin hydrique 5

I -3-2- Température 6

I -3-3- Lumière 6

I -3-4- Type de sol..... 6

I -4- Variété Cavendish *Acuminata AAA*..... 6

I -4-1- Morphologie 7

I -4-2- Développement et physiologie 7

I -5- Utilisation 8

I -5-1- Usages du bananier et ses différentes parties..... 8

I -6- Péricarpe de la banane..... 8

I -6-1- Caractérisation physicochimique et nutritionnelles de péricarpe 9

 1-6-1-1 *Structure cellulaire* 9

 1-6-1-2- *Couleur*..... 10

<i>I -6-1-3- Composition biochimique</i>	10
Chapitre II –Généralités sur les métabolites secondaires	12
II -1- Généralités sur les polyphénols	12
Classification des composés phénoliques	13
II -2- Généralités sur les flavonoïdes	13
Structure et classification	14
II -3- Généralités sur les tanins	15
Classification	16
II -4- Généralités sur les coumarines.....	16
II -5- Généralités sur les polysaccharides	17
Classification.....	17
II -5-1- Mucilages	18
II -6- Lipides	18

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre III : matériel et méthodes

III -1- Matériel	19
III -1-1- Matériel végétal	19
III -1-2- Matériel de laboratoire	19
III -2- Méthodes d'analyse	19
III -2- 1- Analyse phytochimique la pelure de la banane	19
III -2- 1- 1- Préparation de l'infusé	20
III -2-2- Caractérisation physico-chimique de la poudre de la pelure de banane.....	22
<i>III -2-2-1- Détermination de la teneur en eau</i>	22
<i>III -2-2-2- Mesure de pH</i>	23
<i>III -2-2-3- Détermination de la teneur en cendres</i>	23
<i>III -2-2-4- Détermination des éléments minéraux</i>	24
<i>III -2-2-5- Détermination de l'acidité titrable</i>	25
<i>III-2-2-6- Dosage des sucres</i>	25

<i>III-2-2-7- Dosage de l'acide ascorbique</i>	27
<i>III-2-2-8- Extraction et dosage des polyphénols totaux</i>	28
<i>III-2-2-9- Extraction des tanins</i>	30
<i>III-2-2-10- Extraction des mucilages</i>	32
<i>III-2-2-11- Extraction des polysaccharides hydrosolubles</i>	33
<i>III-2-2-12- Extraction de la matière grasse</i>	35
<i>III-2-2-13- Profil d'acides gras</i>	36
III-2-3- Analyse rhéologique de la poudre de la pelure de banane	37
<i>III-2-3-1 Indice de gonflement</i>	37
<i>III-2-3-2- Analyse de la granulométrie</i>	37
III-2-4 Analyse de groupements fonctionnels par Infra-Rouge	38
III-2-5- Activité antimicrobienne des substances bioactives extraites de la poudre de la pelure de banane	38

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV -1- Résultats d'analyse phytochimique de la poudre de la pelure de la banane.....	42
IV-2- Caractérisation physico-chimique de la poudre de la pelure de banane.....	43
IV -3- résultats d'extraction de quelques molécules bioactives	45
IV -4- Résultats d'analyse rhéologique de la poudre de la pelure de banane	49
<i>IV-4-1 Indice de gonflement</i>	49
<i>IV-4-2- Analyse de la granulométrie</i>	49
<i>IV- 4-3- Analyse de groupements fonctionnels par Infra-Rouge</i>	50
IV -5- Activité antimicrobienne des substances bioactives extraites de la poudre de la pelure de banane	51
Conclusion générale	58

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 01 : Evolution des principaux groupes génomiques de la série Eumusa W : sauvage (Wild type)	3
Figure 02 : Schéma général du bananier	5
Figure 03 : Photographie originale de péricarpe de la banane	9
Figure 04 : Index des couleurs de 2 à 7 établis selon l'échelle de la couleur de la peau ..	10
Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 06 : Classification, structure, sources alimentaires et activités antioxydantes des flavonoïdes exprimées en Trolox équivalent (TEAC).	15
Figure 07: Classification des tanins.	16
Figure 08 : les différentes étapes effectuer pour obtenir la poudre de la pelure de la banane	19
Figure 09 : Infusé obtenu à partir de la poudre de la pelure de banane	20
Figure 10 : Diagramme de dosage des polyphénols totaux.....	29
Figure 11: Etapes de dosage des flavonoïdes.....	30
Figure 12: Etapes d'extraction des tanins par solvants	31
Figure 13 : Etapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles	33
Figure 14 : Etapes d'extraction de la matière grasse.....	36
Figure 15: Analyse de la granulométrie laser MASTERIZER 2000 version 4.0	38
Figure 16 : Composition minérale de la poudre de la pelure de la banane	44
Figure 17 : Résultat de dosage des sucres de la poudre de la pelure de banane	45
Figure 18 : Histogramme de profil d'acide gras	48
Figure 19 : Résultats d'indice de gonflement.....	49

Figure 20 : Distribution granulométrique de la poudre de la pelure de banane	49
Figure 21 : Résultat infrarouge de poudre de la pelure de banane.....	50
Figure 22 : Résultat infrarouge de polysaccharides.....	51
Figure 23 : Photographies des zones d'inhibition de différents extraits de la poudre de la pelure de la banane vis-à-vis la souche <i>Escherichia coli</i>	54
Figure 24 : Photographies des zones d'inhibition de différents extraits de la poudre de la pelure de la banane vis-à-vis la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Figure 25 : Photographies des zones d'inhibition de différents extraits de la poudre de la pelure de la banane vis-à-vis la souche <i>Candida albicans</i>	56
Figure 26 : Photographies des zones de croissance d' <i>Aspergillus niger</i> à la présence de différents extraits de la poudre de la pelure de banane	57

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des composés phénoliques.....	13
Tableau II : Extraits utilisés pour le teste de l'activité antimicrobienne	38
Tableau III : Souches utilisées lors de l'activité antimicrobienne.....	39
Tableau IV : Résultats de l'analyse phytochimique de la poudre de la pelure de banane .	42
Tableau V : Résultats de paramètres physicochimique de la poudre de la pelure de la banane	43
Tableau VI : Résultats des éléments minéraux de la poudre de pelure de banane	44
Tableau VII : Rendements en substances bioactives de la poudre de la pelure de banane.	46
Tableau VIII : Résultats d'extraction de la matière grasse de la poudre de la pelure de banane	47
Tableau IX : Résultats de profil d'acides gras des deux matières grasses.....	47
Tableau X : Diamètre d'inhibition des extraits de la poudre de la pelure de banane contre les souches testées	52

Introduction générale

Longtemps avant que l'humanité n'ait découverte l'existence de microbes, l'idée que de certaines plantes avaient un potentiel guérissant été bien acceptée (Rios et Recio, 2005), Dans les dernières décennies il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (Muthual, 2006) d'où la nécessité d'une valorisation de la médecine traditionnelle. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de certains composés, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ainsi, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques a conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

Musa est un genre, une partie de la famille des Musacées, qui comprend des bananes desserts, du sous-groupe Cavendish, qui sont l'un des principales cultures fruitières comme source d'énergie dans le monde. Et principalement pour les personnes vivant dans les régions tropicales humides (Pereira et *al.*, 2005 ; Padam et *al.*, 2014). Traditionnellement, les bananes sont connues comme source de composés bioactifs capables de favoriser la cicatrisation, principalement des brûlures, également un antidiabétique, antidiarrhéique, antidysentérique et antihémorragique. Ces composés comprennent des composés phénoliques, polysaccharides et lipides qui sont bénéfiques pour la santé humaine (Nguyen et *al.*, 2003).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail qui rentre dans le cadre de projet de recherche de notre promotrice qu'a pour but principal la valorisation de la pelure de banane en vue extraire des substances bioactives (polyphénols, flavonoïdes, tanins et polysaccharides hydrosolubles ...) pour des applications ultérieures. Ainsi, l'évaluation des activités biologiques des différentes substances extraites.

Ce travail est subdivisé en trois parties :

La première partie comprend deux chapitres traitant respectivement des généralités sur le bananier *Cavendish acuminata* et les composés phénoliques.

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

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

Chapitre I : Généralités sur le bananier

I-1- Origine et diversité génétique

I-1-1- Origine des bananiers

Le bananier est originaire de l'Asie du Sud-Est, où il est retrouvé de l'Inde à la Polynésie (Simmonds, 1962) et son centre de diversification semble être la Malaisie ou l'Indonésie (Daniells et *al.*, 2001). Il s'est propagé vers l'Afrique de l'Ouest il y a au moins 2500 ans (Mbida Mindzie et *al.*, 2001). Son implantation aux Amériques s'est d'abord faite par la République Dominicaine en 1516 grâce à des plantes en provenance des îles Canaries, et s'est poursuivie vers l'Amérique Centrale et du Sud. Ainsi, depuis des millénaires, les migrations humaines et les échanges de matériel végétal ont introduit le bananier dans des situations écologiques très différentes sur tous les continents (Lassoudière, 2007).

I-1-2- Classification

La systématique est donnée selon (Bonnier, 1986) ; Lavergne et (Vera, 1989) comme suit :

Embranchement : spermaphytes

Sous embranchement : angiospermes

Famille : Musaceae

Ordre : Zingiberales,

Classe : Monocotylédones

Genre: - Musella, très peu représenté et localisé en Asie,

- Ensete, ne comportant pas d'espèces parthénocarpiques,

- Musa, présentant une forte variabilité et caractérisée par des inflorescences avec des bractées insérées séparément des fleurs, à l'inverse du genre Ensete.

Les premières classifications du genre *Musa* sont apparues à la fin du 19^e siècle. ce genre se divise en quatre sections (Cheesman, 1947 cité par Heslop-Harrison et *al.*, 2007) sur base du nombre de chromosomes et de caractéristiques morphologiques : les *Australimusa* (n = 10) ; les *Callimusa* (n = 10) ; les *Rhodochlamys* (n = 11) et enfin les *Eumusa* (n = 11) avec 10 à 12 espèces qui constituent le genre le plus diversifié et comprend plus de

1 000 variétés dont les plantains (Lassoudière, 2007) . Une étude récente basée sur l'AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) propose de réduire les quatre groupes à deux groupes le genre *Musa* en regroupant les *Rhodochlamys* avec les *Eumusa* et les *Australimusa* avec les *Callimusa* (Wong et al., 2002). Ces regroupements n'ont pas à ce jour été retenus (Perrier et al., 2011).. Cependant, d'autres regroupements ont été proposés et la classification précise des espèces et sous-espèces reste toujours débattue (Heslop-Harrison et al., 2007). De plus, de nombreuses régions du centre de diversification du genre *Musa* en Asie du Sud-Est n'ont pas encore été explorées et de nouvelles variétés et espèces continuent d'être découvertes (Häkkinen, 2009).

La majorité des variétés de bananiers sont issues des deux espèces à graines *Musa acuminata* (génome A) et *Musa balbisiana* (génome B) ou de leur croisement qui a donné naissance à différentes variétés de bananiers (Simmonds et al., 1955). Du point de vue botanique, on distingue les bananiers séminifères ou bananiers sauvages à fruits non comestibles des bananiers à fruits parthénocarpiques et comestibles dont le nombre de cultivars par le monde est estimé à 1 200 (Cirad-Filhor, 2003) et représente une diversité génétique non négligeable.

Généralement, les variétés sauvages, à fruits non comestibles sont toutes diploïdes (AA et BB). Les variétés cultivées actuellement sont généralement des clones triploïdes stériles et aspermes (AAB et ABB), issus soit de croisements interspécifiques entre les 2 principales espèces séminifères diploïdes (*Musa acuminata* et *Musa balbisiana*), soit de croisement intra spécifique d'une seule espèce *acuminata* telle que la variété Cavendish (AAA) (Figure 1).

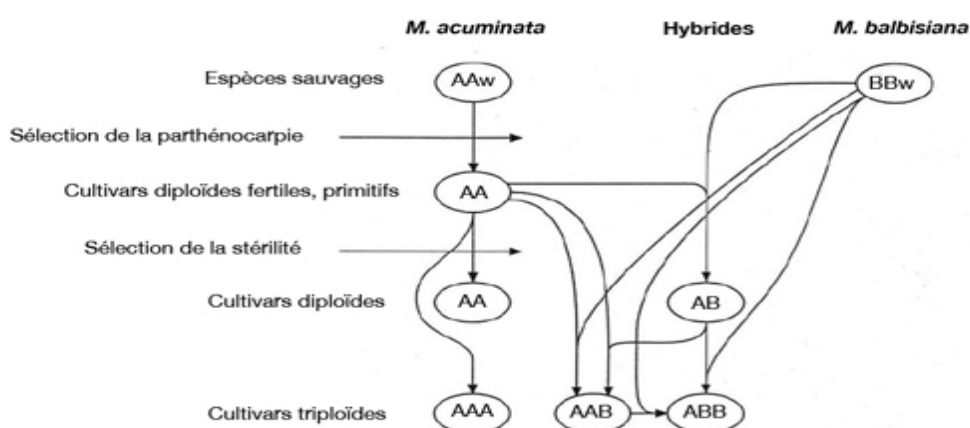


Figure 01 : Evolution des principaux groupes génomiques de la série Eumusa W : sauvage (Wild type) (Jones, 2000)

I -2- Généralités sur les Musacea

Le bananier est une plante herbacée de grande taille : 7 à 15 m selon les variétés. Sa partie souterraine est composée d'un bulbe qui comporte un bourgeon central ou méristème apical à partir duquel sont initiées les ébauches foliaires puis les ébauches florales. C'est donc à partir de ce bulbe que sera initiée la fleur du bananier qui deviendra le régime (Tezenas du Montcel, 1985). Il ne possède pas de tige aérienne, la vraie tige est souterraine (rhizome). Le méristème terminal de la tige produit une série de 20 à 30 feuilles de dimensions croissantes au rythme d'une tous les 6 à 15 jours suivant les conditions de température, d'hydrométrie et d'insolation. Le nombre de feuilles varie donc selon le cultivar et les conditions environnementales (Jones, 2000).

L'enroulement des gaines les unes dans les autres, les plus anciennes étant repoussées vers l'extérieur par le développement des plus jeunes au centre, forment le pseudo-tronc du bananier. (Champion, 1967).

Le bananier est monoïque dont l'inflorescence est un épi de cymes comportant deux types de fleurs : les fleurs dites femelles qui se forme en premier et qui donneront les fruits, les fleurs dites mâles à l'extrémité de l'axe floral qui dégènerent après la floraison. L'axe de l'inflorescence présente des bractées à l'aisselle desquelles les fleurs sont insérées généralement sur deux rangées. Cet ensemble forme une main où chaque fleur est un doigt qui donnera un fruit.

Les facteurs de stress intervenant au cours du développement du fruit sur pied, à la récolte ou post récolte ont également un effet sur le processus de mûrissement pouvant aboutir à une stimulation de la maturation et de la sénescence (Omoaka, 2000) et notamment sur la durée de vie verte et la qualité du fruit dans le cas des maladies parasitaires telles que les pourritures de couronne (Jones, 2000).

Le bananier est une monocotylédone. Mis à part les espèces à graines (espèces de bananiers sauvages) qui disposent à la fois d'une multiplication végétative et d'une reproduction sexuée, le mode de reproduction des bananiers cultivés est la multiplication végétative (Bakry, 1984).

Les bananes et plus particulièrement les bananes Cavendish sont le résultat du développement parthénocarpique des ovaires femelles uniquement. De sorte qu'un régime comprend entre 9 et 12 mains, chacune pouvant porter 18 à 20 bananes.

La récolte du régime de bananes Cavendish se fait environ trois mois après la sortie de l'inflorescence (Lescot, 1998). L'évolution en sucres solubles de l'amidon, se met en

place au cours de la maturation du fruit, laquelle peut se faire hors pied ou quand le régime reste attaché au pied-mère (Bakry, 1984). Bien que le bananier ne puisse donner qu'un seul régime par cycle, on le considère comme une culture pérenne.

En effet, au cours de la phase végétative, la souche produit plusieurs rejets latéraux. Dans les bananeraies, une fois le régime récolté, la plante est coupée à sa base et un seul (ou plusieurs) rejet(s) est (sont) conservé(s) pour donner un nouveau plant fructifère. Alors qu'un cycle de culture (plantation-récolte, récolte-récolte) dure de six à dix-huit mois, une bananeraie peut être maintenue plusieurs dizaines d'années.

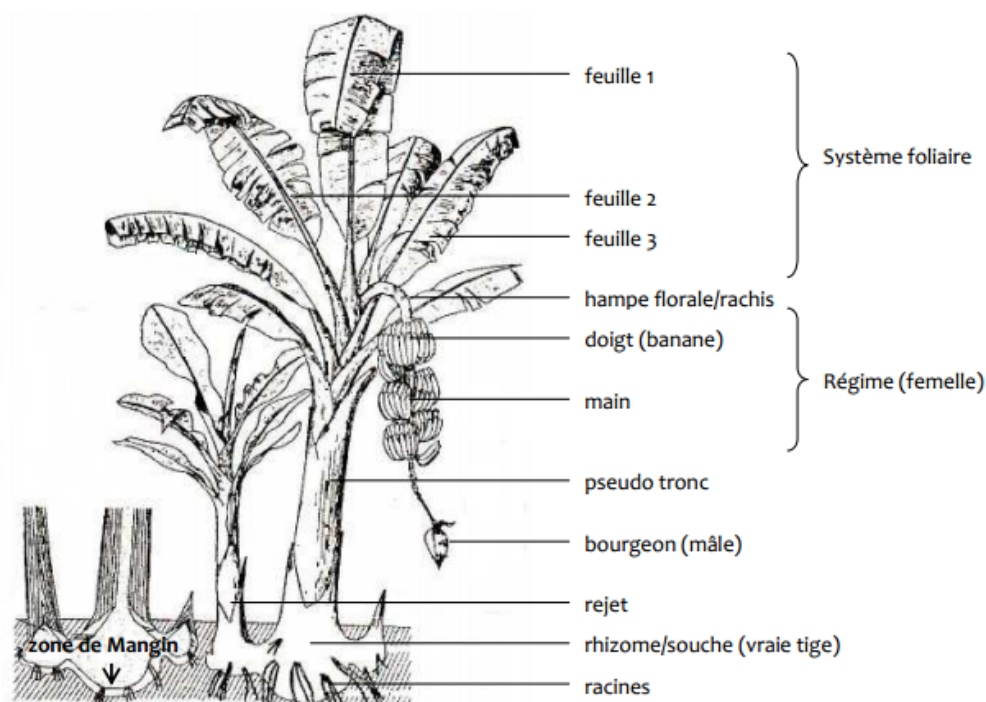


Figure 02 : Schéma général du bananier (Champion, 1987)

I-3- Ecologie de bananier

I-3-1- Besoin hydrique

Le bananier est une plante exigeante en eau, elle demande un climat chaud et humide (climat axérique ou tropical avec une courte saison sèche). Les feuilles ont une structure particulière favorisant le transport de l'eau mais défavorable au niveau du bilan hydrique. En effet, le limbe se développe de part et d'autre de la nervure centrale qui présente un parenchyme aquifère important (bande pulvinaire).

Enfin, l'émission et la croissance des racines sont influencées par les conditions du milieu (conditions hydriques). Elles supportent mal le déficit mais tolèrent tout aussi mal un excès (anoxie). Un bon drainage est donc primordial dans une bananeraie.

I -3-2- Température

Le bananier est sensible aux basses températures. Dès qu'elles descendent sous la valeur de 24°C, la vitesse de croissance foliaire diminue. En deçà de 12°C, les feuilles sont déformées et se nécrosent, les échanges gazeux sont ralentis et la maturation du fruit est ralentie.

Exemple : l'optimum thermique se situe entre 28 et 30°C pour les bananiers triploïdes AAA de type Cavendish (banane dessert) qui doivent bénéficier de conditions climatiques et édaphiques optimales comme il peut supporter des températures de 40°C et parfois même plus car il régule sa température interne par la transpiration.

I -3-3- Lumière

Le bananier peut supporter de fortes insolationes pourvu que l'alimentation hydrique soit suffisante. En cas de déficit hydrique prononcé, une trop forte insolation provoquera des brûlures surtout sur les jeunes feuilles. Un manque de lumière agit sur la hauteur des rejets (augmentation de la taille) et ralentit la végétation.

I -3-4- Type de sol

Le système racinaire du bananier exige un sol de bonnes caractéristiques physiques : une structure meuble, un sol aéré avec un bon drainage et une disponibilité en eau suffisante. Le bananier requiert des conditions de pH neutre à légèrement acide : pH 4,5 à 8,5 (Delvaux, 1995). Le bananier est exigeant en minéraux surtout en azote et en potassium. Les besoins en phosphore et en calcium sont relativement faibles. Il en est de même pour ses besoins en Mg. Il peut enfin supporter une certaine salinité de sol et/ou de l'eau (jusqu'à 300 mg/l de NaCl) et est sensible à la toxicité aluminique (Rufyikiri, 2000).

I -4- Généralités sur la variété *Cavendish Acuminata* AAA

Le sous-groupe homogène des bananiers *Cavendish Acuminata* AAA doit son nom au cultivar Dwarf Cavendish qui a été nommé en l'honneur de William Cavendish. Il a été adopté dans presque toutes les régions tropicales humides pour son fort potentiel productif (jusqu'à 60 tonnes/ha) associé à une bonne précocité (récolte en 10 mois) et une taille réduite (moins de 3 mètres) facilitant sa culture (Lescot, 1998). Originaires du Vietnam et de la Chine (Persley et al., 1996).

I -4-1- Morphologie

On trouve dans ce groupe des formes géantes (lacatan), moyennes (maneah, poyo, valéry et sérédou) et naines (la grande naine, le nain). Les bananes sont formées de la peau (le péricarpe) et de la pulpe (l'endocarpe).

Le fruit est relié au coussinet par un pédicelle. Le péricarpe est composé d'un épiderme stomatifère avec une cuticule ne permettant que peu d'échanges gazeux, d'une couche parenchymatique sous-épidermique et d'une zone profonde à parenchyme lâche (Omoaka, 2000). Les fruits possèdent une grande proportion de peau qui diminue avec leur maturité. Les ovules avortés se retrouvent dans l'endocarpe et les grosses cellules ovoïdes amylières des 3 carpelles constituent l'essentiel de la pulpe (Lassoudière, 2007).

Au moment de la floraison, les feuilles fournissant à la plante une surface foliaire importante permettent de canaliser les eaux de pluie (Stover et *al.*, 1987). A la sortie de l'inflorescence, il ne reste que 11 à 15 feuilles fonctionnelles (Lassoudière, 2007). Pour un développement correct des fruits jusqu'à la récolte, il faut au minimum 8 feuilles fonctionnelles à la floraison et au moins 4 à la récolte.

Le bourgeon situé à l'aisselle de chaque feuille donne naissance à un rejet. A la fin de la phase végétative, le changement de fonctionnement du méristème central provoque la croissance et l'allongement de la tige vraie au cœur du pseudo-tronc, puis l'émergence de l'inflorescence.

I -4-2- Développement et physiologie

Quatre périodes essentielles de croissance du fruit sont à retenir pour les variétés Cavendish (Lassoudière, 2007) :

- 1- Croissance faible jusqu'au début de l'allongement de la hampe florale.
- 2- Divisions cellulaires très actives qui sont à l'origine du développement de la pulpe et une forte élongation du fruit.
- 3- Grandissement cellulaire qui correspond au remplissage des cellules de la pulpe par l'accumulation d'amidon (stockage) .
- 4- Phase finale de maturation, caractérisée par l'hydrolyse de l'amidon.

Au sein du même régime, des différences de développement sont observées. Les fruits initiés les premiers sont par exemple de 30 à 40% plus gros que ceux initiés en dernier (Robinson 1996).

Les écarts de longueur entre la deuxième et la dernière main s'accroissent du début de relèvement des doigts jusqu'à la récolte mais leur valeur relative reste constante (20%)

(Lassoudière, 2007). Il a été suggéré que le développement différentiel des fruits résulterait des différences au niveau des divisions cellulaires et des caractéristiques de remplissage des fruits causées par la différence d'âge observée entre les fruits.

Lassoudière, (2007) précise que si la différence d'âge entre les fleurs d'une même main n'est que de deux jours en moyenne, elle est de plus de 15 jours entre les mains 1 et 8.

I -5- Utilisation

Les bananiers dessert sont cultivés depuis des siècles par toutes les populations des régions tropicales humides. Ils révèlent une saveur particulièrement douce et parfumée, développant des arômes riches, soutenus par une texture moelleuse. Le fruit plus souvent consommé crue comme dessert, il agrmente notamment les salades de fruits, en compote, comme accompagnement d'autres aliments, consommé en confitures, marmelades et également utilisé pour en faire de la farine de bananes pour la fabrication des gâteaux et des biscuits (Kasongo, 2005 ; Cirad, 2001).

La peau peut aussi être utilisée pour l'alimentation du bétail. Le suc des peaux a une texture identique au caoutchouc (Cirad, 2001 ; Tchango et *a.l.*, 1998). Ainsi les différents usages médicaux et usages industriels dont la pulpe serve à la fabrication de sirop (Cirad, 2001), sucre, chips de bananes.

I -5-1- Usage du bananier et ses différentes parties

Durant les siècles précédents, le fruit était surtout cultivé pour son tronc représentant une excellente source de fibres afin de confectionner des cordages, des vêtements, des sacs.

Les feuilles étaient recyclées pour la fabrication d'assiettes, d'emballage de cuisson et servaient également à la fabrication d'abris et de cahiers, sont aussi utilisées comme emballage des aliments en vue de conserver leur fraîcheur (Kasongo, 2005). En outre, elles sont diététiquement intéressantes du fait de la présence de cellulose qui facilite le transit intestinal, et de vitamines quand elles sont fraîches (FAO, 1991).

L'emploi des inflorescences et de la portion interne des tiges comme légumes bouillis, La peau du fruit peut également servir au tannage. En effet, elle renferme une forte proportion de tanins qui donnent aux cuirs ou aux tissus une coloration noire presque indélébile. La sève de banane peut servir de teinture.

I -6- Péricarpe de la banane

La peau de banane (Figure 03) offre de multiples bénéfices autant au jardin qu'à la maison. Fertilisant naturel, produits ménager lustrant ou même produit cosmétique grâce aux

d'antioxydants et d'antifongiques qu'elle contient, elle possède aussi des propriétés antibactériennes et enzymatiques qui peuvent être très bénéfiques.

De plus, elle est riche en vitamines B6, B12, C, K, magnésium, potassium, cuivre et fibres.

En effet, tous les nutriments qu'on trouve dans la peau de banane sont nécessaires à la floraison et à la fructification des plantes, fonctionnent comme un excellent engrais organique pour nourrir les plantes et éloigner les maladies.

Des études ont révélé qu'elle absorbe les toxines dans les rivières contaminées, surtout les métaux lourds qui finit par purifier l'eau. Elle est connue en médecine traditionnelle pour accélérer le processus de cicatrisation. Par extension, elle fera donc un cataplasme de choix sur les brûlures, les morsures et les coupures. Elle contient la lutéine qui permet de lutter contre l'acné et un antioxydant qui retarde les signes de vieillissement et stimule la production de collagène et améliore la circulation sanguine. Mais aussi d'atténuer certaines dermatoses comme le psoriasis et l'eczéma.

Ses polysaccharides de la s'infiltrer dans les cellules de la peau pour arrêter le gonflement et l'inflammation causer par piqûre de moustique. Elle contient aussi de l'acide citrique et acide salicylique antifongique et astringent, ce qui peut aider à réduire les taches jaunes sur les dents et les rendre blanches.

De plus, elle fonctionne comme un agent exfoliant naturel pour éliminer les toxines des pores de la peau, qui à son tour traite et réduit le risque d'acné grâce à son pouvoir antioxydant qui aide à combattre les germes.



Figure 03 : Photographie originale de péricarpe de la banane

I-6-1- Caractérisation physicochimique et nutritionnelle de péricarpe

1-6-1-1 Structure cellulaire

La peau se compose de plusieurs assises cellulaires dont l'épiderme qui est constitué de cellules très serrées assurant une bonne protection contre les insectes, les champignons, le parenchyme qu'il est constitué de plusieurs couches cellulaires d'autant plus lâches que l'on

se rapproche de la pulpe. Ceci explique d'ailleurs le clivage facile Peau- Pulpe. Ce sont les cellules du parenchyme qui contiennent la chlorophylle dont la couleur change lors du mûrissement, et les faisceaux cribro-vasculaires qui servent au transport de l'eau et des nutriments (ils sont plus ou moins accolés à la pulpe lors de l'épluchage).

I-6-1-2- Couleur

La banane non mûre a une haute concentration en chlorophylle dans la peau alors que dans la banane mûre, cette teneur est pratiquement nulle (Ali, 1984).

Une banane verte contient deux classes de pigments vert (chlorophylle) et jaune (carotène). Pendant la maturation, la chlorophylle est dégradée progressivement par l'action des chlorophyllases révélant ainsi le carotène. (Von Loesecke, 1950) décrit huit stades de maturité chez les bananes comestibles.

Généralement dans le commerce, sept stades de maturation sont déterminés visuellement (Li et *al.*, 1997). Ces stades de maturité sont définis en fonction des teneurs en amidon et en sucres totaux pour chacun d'eux. Ces différents stades de maturation sont également décrits en fonction de la couleur de la peau (Lii et *al.*, 1982).

Les conditions de stockage des fruits ont une influence sur le mûrissement et par conséquent, le changement de couleur qui traduit ce mûrissement (Chen, 2002). A partir du stade de maturité 7, les bananes dessert (AAA) sont en surmaturité et les phénomènes de sénescence commencent à se manifester (liquéfaction de la pulpe et noircissement de la peau).

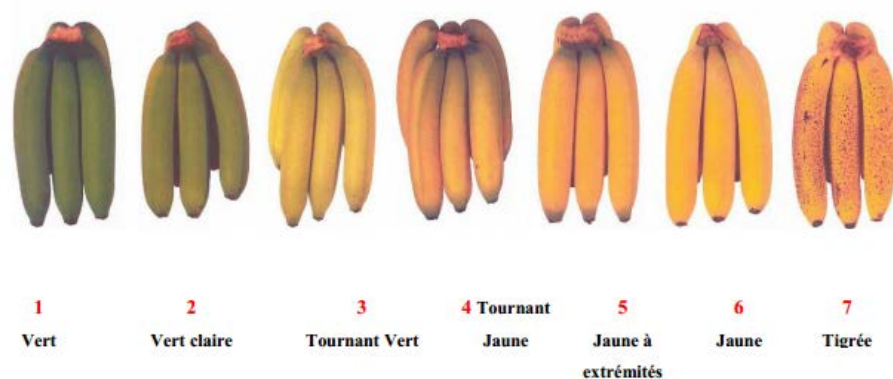


Figure 04 : Index des couleurs de 2 à 7 établis selon l'échelle de la couleur de la peau (Lii et *al.*, 1982)

I-6-1-3 Composition biochimique

La composition biochimique de péricarpe varie selon la variété, l'évolution des conditions du milieu, d'une période à l'autre de la vie du bananier (Martin-Prevel, 1982). Sa pulpe représente 60 à 65% du fruit. C'est un aliment hautement énergétique (379 kJ pour 100

g) dont les hydrates de carbone sont facilement assimilables. Sa teneur en lipides et en protides est faible, mais elle est riche en fibres.

La peau contient des amines qui sont responsables de certains effets thérapeutiques et de nombreuses vitamines, des matières minérales, ce qui la rend intéressante au niveau nutritionnel. Les glucides disponibles sont présents en quantités intéressantes. Les protéines et les lipides sont en très faible proportion, voire quasi-absents pour ce qui est des lipides (Happi- Emaga et *al.*, 2007).

Les principaux constituants de la peau sont en pourcentage du poids frais : l'eau (89,45), les glucides totaux (2,29), les sucres totaux (2,06), le saccharose (1,55), les pectines (0,58), les sucres réducteurs (0,51), les lipides (0,50), l'amidon (0,23). Elle constitue aussi d'autres éléments actifs qui ont des différentes activités biologiques telles que l'activité antioxydante, antidépresseur, anti-inflammatoires, hépatoprotectrice (Havsteen, 1983) vasculoprotectrice, antiallergique, antiulcéreuse, anti-tumorale, antimicrobienne et antifongique.

Chapitre II : Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge et *al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007). Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses.

II -1 Généralité sur les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (Bruneton, 1999 ; Lugasi et *al.*, 2003).

En effet, les composés phénoliques constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (Lugasi et *al.*, 2003).



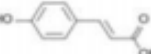
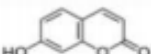
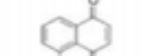


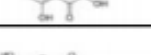
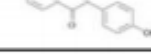
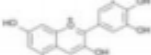


Les principales classes de composants phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young, 1999 ; Tapiero et *al.*, 2002).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et charpentier, 2006). Dans le cas de la banane, les teneurs en polyphénols totaux sont plus élevées dans la peau (907 mg/100 g d'extrait sec) que dans la pulpe de banane (232 mg/ 100 g d'extrait sec).

- **Classification des composés phénoliques**

Les différentes classes des polyphénols sont résumées de ce tableau suivant :

Tableau I : Classification des composés phénoliques (Marcheix, 2005) et (Bruneton, 1999).

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	<u>Phénols simples</u>	Hydroquinone		<u>Busserole</u>
C6-C1	<u>Acides hydroxybenzoïques</u>	Acide p-hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	<u>Acides hydroxycinnamiques</u>	Acide p-coumarique		Tomates, ail
	<u>Coumarines</u>	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	<u>Naphtoquinones</u>	Juglone		Noix
C6-C2-C6	<u>Stilbénoides</u>	Trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	<u>Flavonoïdes</u>	Kaempférol		Fraises
	<u>Isoflavonoïdes</u>	Daidzéine		Graines de soja
	<u>Anthocyanes</u>	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon
(C6-C3) ₂	<u>Lignanes</u>	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) _n	<u>Lignines</u>			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) _n	<u>Tanins condensés</u>	Procyanidol		Raisins, kaki

II -2- Généralité sur les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement présents dans le règne végétal. Ils représentent les polyphénols les plus distribués dans la nature et sont consommés régulièrement sous forme de fruits, de légumes ou dans des boissons tels que le vin, le thé, le café, la bière. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant des activités biologiques telles que des propriétés

anti-oxydantes. Ils jouent un rôle très important dans le traitement des inflammations, hémorroïdes, des tumeurs, des thromboses, des affections bactériennes etc. (Bruneton, 1993). Ils ont par exemple été cités pour leur rôle d'inhibiteur des sécrétions acides des cellules pariétales gastriques (Beil, 1995). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels.

Du point de vue structural, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et Williams., 2000).

- **Structure et classification**

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyrane (Skerget et *al.*, 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (Dacosta, 2003).

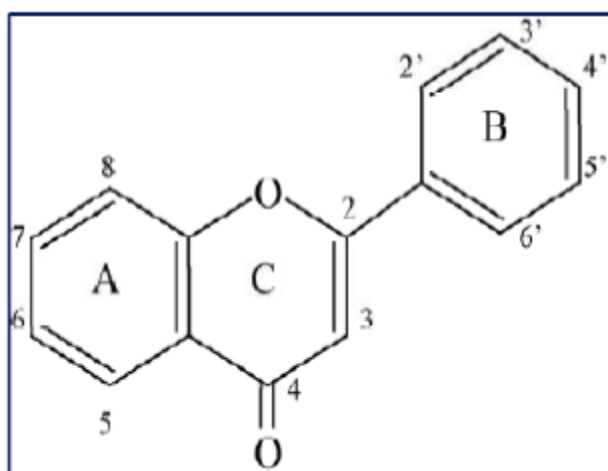


Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo et *al.*, 1999).

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (Dacosta, 2003).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, auronnes, chalcones, anthocyanins (Effendi et *al.*, 2008).

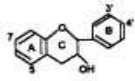
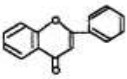
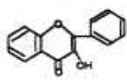
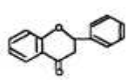
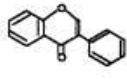
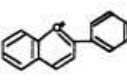
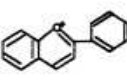
Class	General structure	Flavonoid	Substitution Pattern	Dietary Sources	TEAC (mM)
Flavanol		(+)-catechin	3,5,7,3',4'-OH	Tea (camellia sinensis) ⁶	2.4
		(-)-epicatechin	3,5,7,3',4'-OH	Tea ⁶	2.5
		Epigallocatechin gallate	3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate	Tea ⁶	4.75
Flavone		chrysin	5,7-OH	Fruit skins	1.43
		apigenin	5,7,4'-OH	Parsley, celery	1.45
		rutin	5,7,3',4'-OH, 3-rutinoses	Red wine ⁵ , buckwheat ⁷	2.4
		luteolin	5,7,3',4'-OH	citrus, tomato skin ⁸	2.1
Flavanol		luteolin glucosides	5,7,3'-OH, 4'-glucose	Red pepper ¹¹	1.74
		kaempferol	3,5,7,4'-OH		0.79
		quercetin	3,5,7,3',4'-OH	Leek, broccoli, endives grapefruit, black tea	1.34
Flavanone (dihydroflavon)		myricetin	3,5,7,3',4',5'-OH	Onion, lettuce, broccoli	4.7
		tamarixetin	3,5,7,3'-OH,4'-OMe	tomato, tea, red wine berries, olive oil, appleskin	3.1
		naringin	5,4'-OH,7-rhamnoglucose	Cranberry grapes, red wine	3.1
Isoflavone		naringenin	5,7,4'-OH	Citrus, grapefruit	0.24
		taxifolin	3,5,7,3',4'-OH	Citrus fruits	1.53
		eriodictyol	5,7,3',4'-OH	Citrus fruits	1.9
		hesperidin	3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoses	Lemons ^{5,4}	1.8
		genistin	5,4'-OH, 7-glucose	Oranges ⁹	1.08
Anthocyanidin		genistein	5,4'-OH, 7-glucose	Soybean ¹⁰	1.24
		daidzin	5,7,4'-OH	Soybean ¹⁰	2.9
		daidzein	4'-OH, 7-glucose	Soybean ¹⁰	1.15
		cyanidin	7,4'-OH	Soybean ¹⁰	1.25
Anthocyanidin		apigenidin	5,7,4'-OH	Colored fruits	2.35
		cyanidin	3,5,7,4'-OH,3,5-OMe	Cherry, raspberry, strawberry	4.42

Figure 06 : Classification, structure, sources alimentaires et activités antioxydantes des flavonoïdes exprimées en Trolox equivalent (TEAC)

II -3- Généralité sur les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau, dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000. Ils sont en général capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines (Stévanovic, 2005). Cette réactivité avec les protéines est à l'origine des propriétés tannantes qu'ils exercent sur le collagène de la peau au cours de la transformation de la peau en cuir, la rendant imputrescible et moins perméable à l'eau.

Les tanins sont très répandus dans le monde végétal, leur teneur et leur nature varient d'une espèce à l'autre. Les tanins peuvent être un antibiotique et en même temps un antifongique pour certaines souches. Ils peuvent jouer une activité anti-oxydante en inhibant la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes mais aussi l'oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate. Lors de la peroxydation, les tanins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi des radicaux tanniques stables sont formés, ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique.

- **Classification**

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

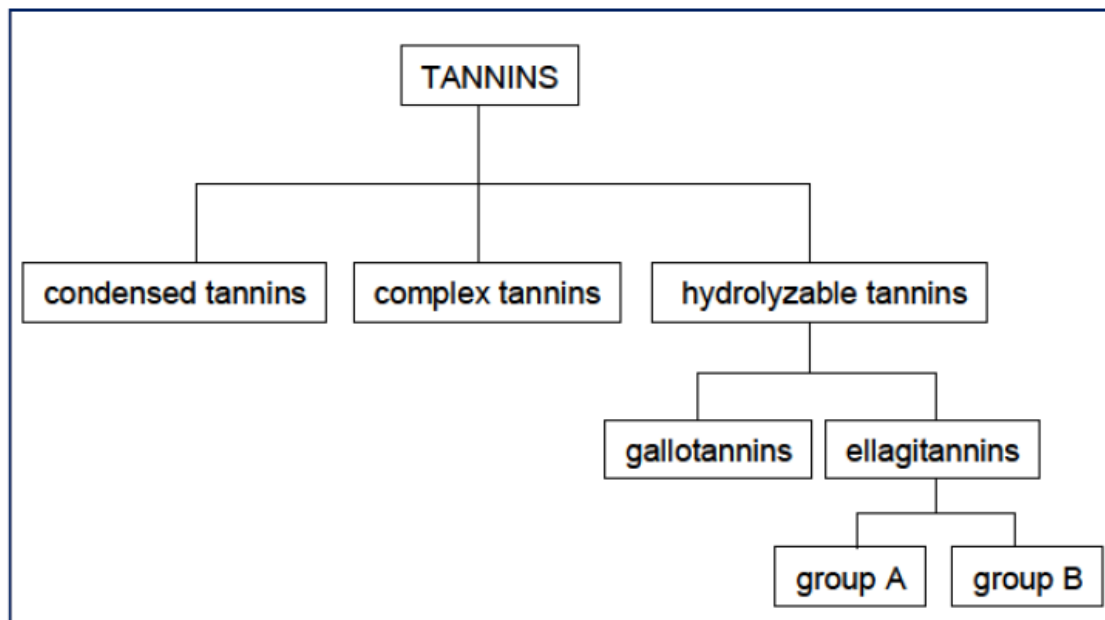


Figure 07 : Classification des tanins (Wilfred et Ralph, 2006).

a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques (Paris et Hurabielle., 1981).

a-1-Tanins galliques (Gallo tanins)

Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.

a-2- Tanins ellagiques (Ellagitanins)

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (Paris et Hurabielle., 1981).

b-Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanoliques constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (Khanbabaea et Ree., 2001). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine est celle des flavonoïdes est caractérisés par l'absence de sucre (Paris et Hurabielle., 1981).

II -4- Généralités sur les coumarines

Nous pouvons considérer que les différentes coumarines dérivent des acides cinnamiques ortho-hydroxyles, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide o-coumarique. Les coumarines les plus fréquentes sont l'umbelliférone ou ombelliférone, l'aesculetine, la scopoletine, dont les substitutions correspondent respectivement aux acides p-coumarique, caféique et férulique. Signalons également la fraxétine et la daphnétine

II -5- Généralité sur les polysaccharides

Les polysaccharides sont des glucides résultant de la polymérisation d'un nombre d'ose dépassant quelques dizaines (la limite est très arbitraire). On distingue les homo polysaccharides et les hétéros polysaccharides, selon qu'il y a un seul type d'unité constitutive (oses), ou deux ou davantage. Il ne faut pas confondre cette distinction avec celle caractérisant les holosides et les hétérosides. Dans une nomenclature moderne, le terme de polysaccharides devrait avoir été remplacé par glycanes, surtout usité en anglais (glycans), mais dont l'usage ne s'est pas imposé en français (Widmer et *al.*, 2000).

Les polysaccharides sont de longues chaînes de polymères d'unités de monosaccharides. Selon le polysaccharide, les chaînes peuvent être linéaires ou ramifiées. Chez les animaux, l'excès de glucose est stocké sous forme d'un long polysaccharide ramifié appelé glycogène alors que chez la majorité des végétaux, la forme principale de stockage du glucose est l'amidon, un autre long polysaccharide.

- **Classification**

- a- Homo-polysaccharides**

Les homo-polysaccharides peuvent être classés en fonction de la nature de leur unité monosaccharide. Par exemple, les glucanes sont des polymères de glucose et les galactanes sont des polymères de galactose (Voet et *al.*, 2005).

- Les xylanes sont des monomères de D-xylose
 - Les chitosanes sont des monomères de D-glucosamine (Moussard , 2006)

- b- Hétéro-polysaccharides**

Polysaccharides hétérogènes composés est mal défini car, d'une part, certains polysaccharides mixtes ne sont sans doute que des mélanges de polysaccharides homogènes non séparés et d'autre part, il fait transition avec les mucopolysaccharides par association à des fractions protéiques. Ces substances essentiellement végétales entrent dans la composition des gommes et des mucilages et participent à la constitution des enveloppes cellulaires bactériennes et des capsules.

- Galactose + arabinose = galactoarabane
- Xylose + arabinose = hémicellulose (Moussard, 2006)

II -5-1- Mucilage

Ce sont des constituants normaux des plantes. Ils ont un rôle protecteur (préviennent la déshydratation des graines et leur conservent leurs facultés germinatives). Ils sont localisés dans les graines le plus souvent. Il en existe de 2 sortes : acides uroniques et neutres (Vercautere, 2011) dévoile que les mucilages sont des complexes de polysaccharides formés du sucre et les mucilages acides uroniques d'unités forment les masses gluantes dans l'eau, sont en général hétérogènes en composition (Divekar et al., 2010).

II -6- Lipides

Les stérols et plus précisément les deux principaux kétones tri terpéniques (3.1-norcyclolaudenone et cycloeucalenone) représentent environ 49 – 71% de l'extrait de banane lipophile. Les fortes teneurs en steryl esters (469 - 24405 mg/kg) et diacylglycerols (119 – 878 mg/kg), principalement présents dans les peaux de bananes expliquent l'augmentation de la quantité d'acides gras et stérols, après une hydrolyse alcaline.

L'acide linoléique (oméga 6) et linoléique (oméga 3) représentent plus de 20% (27,00 ; 22,65%) des acides gras totaux, présents dans les peaux de bananes de diverses variétés. La matière grasse extraite des peaux de bananes est riche en acides gras essentiels polyinsaturés. Les acides gras saturés représentant 30,7% à 32,7% des acides gras. Les principaux acides gras saturés sont les acides palmitiques et stéariques mais on retrouve aussi en plus faibles quantités les acides arachidique, béhénique et margarique. La teneur totale en lipides ne varie pas au cours des étapes de mûrissement.

III -1 Matériel

III -1-1- Matériel végétal

- **Objectif de travail**

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

L'objectif principal de cette étude est de caractériser et extraire quelques molécules bioactives de la pelure de la banane *Cavendish acumunita*. Le travail pratique est subdivisé en quatre parties suivantes :

- Caractérisation phytochimique de la poudre de la banane *Cavendish acumunita*
- Caractérisation physico-chimique de fruit de *Cavendish acumunita*
- Extraction et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes caractérisant la pelure de la banane *Cavendish acumunita*
- Activité antimicrobienne des extraits phénoliques de la pelure de la banane *Cavendish acumunita*.

- **Echantillonnage**

Le matériel végétal est constitué de la pelure de banane du sous-groupe *Cavendish acumunita*. Cette pelure a été d'abord séchée à température ambiante, à l'humidité et à l'abri de la lumière pendant deux semaines. Une fois séchée a été broyée en poudre fine à l'aide d'un broyeur type « moulin à café » suivi d'un tamisage pour obtenir une poudre fine et conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermés (Figure 08).

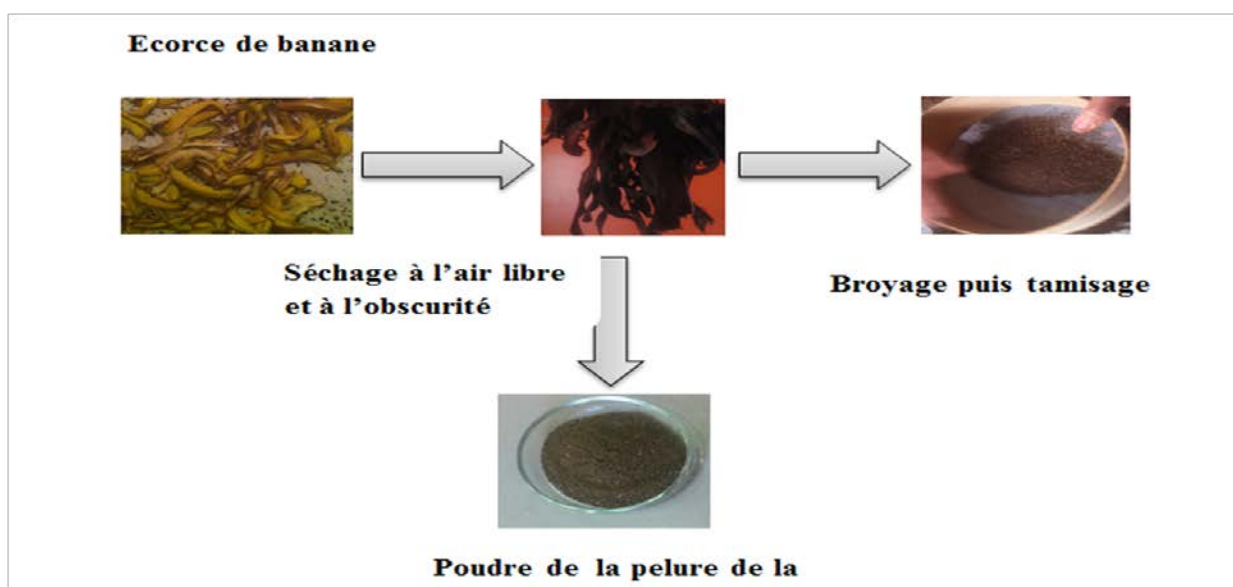


Figure 08 : les différentes étapes effectuées pour obtenir la poudre de la pelure de la banane

III -1- 2 Matériel de laboratoire

Les appareillages, milieux de culture, réactifs et verrerie utilisés dans ce travail sont mentionnés en (annexe 1).

III -2- Méthodes d'analyses

III -2-1- Analyse phytochimique de la pelure de banane

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre de la pelure de banane Cavendish a été faite selon les méthodes standards de screening phytochimique.

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

III -2-1-1- Préparation de l'infusé de la pelure

- 10 g de la poudre sont macérés dans 100 ml d'eau distillée ;
- Porter le mélange à l'ébullition pendant 15 min puis on filtre avec papier Watman;
- Le volume du filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

L'infusé (Figure 09) ainsi obtenu a été utilisé pour la recherche des différents composés chimiques :



Figure 09 : infusé obtenu à partir de la pelure de banane

La solution du filtrat obtenue, a été utilisée pour les analyses ultérieures

Screening phytochimique

❖ *Les anthocyanes*

Introduire dans un erlenmeyer 5 ml de l'infusé, puis on ajoute quelques gouttes d'HCl (1N).

Une réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

❖ *Les tanins*

Quelques gouttes de la solution de FeCl₃ (5%) sont ajoutées à 5 ml de l'infusé.

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

❖ **Les tanins galliques**

On sature le filtrat par l'acétate de sodium (CH_3COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl_3 .

La réaction est dite positive lorsque la coloration bleue foncée apparaît.

❖ **Les flavonoïdes**

5 ml d'HCl (1N), des copeaux de Mg et 1 ml d'alcool iso butanol sont ajoutés à 5 ml de l'infuse

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

❖ **Les saponosides**

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5 ml d'HCl(1 N) dans l'autre 5 ml NaOH (1 N).

On introduit dans chacun deux à trois gouttes de l'infusé, ensuite on l'agite verticalement pendant 30 sec et laisser reposer 15 min.

Une réaction positive est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

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

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

❖ **Les quinones libres**

2 ml d'HCl (1 N) et 20 ml de chloroforme sont ajoutés à 2 g de la poudre végétale, laissez le mélange reposer pendant 3 heures. Après filtration par papier filtre, on ajoute 5 ml d'ammoniaque dilue dans l'eau distillé (1/2).

La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette apparaît.

❖ **Les alcaloïdes**

20 ml d'ammoniaque (1/2) et 50 ml de mélange éther–chloroforme (3/2) ont été ajoutés à 5 g de la poudre. Le filtrat est épuisé par HCl (2 N).

L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendroff qui donne un précipité rouge.

❖ **Les glucosides**

Quelques gouttes d' H_2SO_4 ont été ajoutées à 2 g de la poudre de la pelure de banane.

Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence de glucosides.

❖ **Les coumarines**

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

L'identification des coumarines se fait par l'ajout de 10 gouttes de la solution KOH pure à 3 ou 5 ml de filtrat et quelques gouttes d'Hcl (1N) jusqu'à l'obtention d'un milieu fortement acide.

L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

❖ *Les sennosides*

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

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

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

III -2-2- Caractérisation physico-chimique de la pelure de banane

III -2-2-1- Détermination de la teneur en eau

Principe

Le séchage a été réalisé dans une étuve avec ventilation d'air de type Mammert à $105 \pm 03^\circ \text{C}$.

Mode opératoire

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

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

Expression des résultats

La teneur en eau a été déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M1 - M2}{P} \times 100 \quad (1)$$

Soit :

H(%) : humidité

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

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

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

$$\text{Matière sèche \% : } 100 - H\%$$

(2)

III -2-2-2- Mesure de pH (NF V 05-108,1997)

Principe

La détermination du pH par la méthode potentiométrique a été réalisée à l'aide d'un pH mètre en fonction de temps et de température.

Mode opératoire

- 4 g de l'échantillon dans 100 ml d'eau distillée chaude ;
- Mélanger et laisser refroidir ;
- Etalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon ;
- Prélever 50 ml de volume de de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode ;
- Noter ensuite la valeur du pH.

III -2-2-3- Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113,1972)

Principe

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

Mode opératoire

- Dans des creusets en porcelaine, peser 10 g de l'échantillon ;
- Placer les creusets dans un four à moufle fermé; la température est augmentée progressivement de manière à éviter une calcination violente de produit ce qui entrainerait des pertes maintenues à une température de 550°±15° C jusqu'à obtention d'une couleur blanchâtre de poids constant ;
- Retirer les creusets du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

Expression des résultats

La teneur en cendres est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Cendres \%} = \frac{M_2 - M_1}{P} \times 100$$

$$MO\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \quad (3)$$

Soit :

MO : matière organique en (g) ;

M₁ : masse de creuset + la prise d'essai en (g) ;

M₂ : masse de creuset après incinération en (g) ;

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

$$Tc\% = 100 - MO\% \quad (4)$$

Soit :

Tc : Taux de cendres.

III -2-2-4- Détermination des éléments minéraux

Principe

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

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

Mode opératoire

- Après calcination de 10,5 g de matière sèche de la pelure de la banane récupérer les cendres obtenues ;
- Humecter lentement les cendres par 3 ml d'eau bi distillée et 3 ml d'acide chlorhydrique concentré pour assurer une franche réaction acide ;
- Chauffer sur une plaque chauffante douce sans dépasser 250° C jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Laisser reposer quelques minutes ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer 3 à 4 fois à l'eau bi distillée de 30 à 40° C ;
- Incinérer le papier filtre et son contenu pendant une demi-heure à 550° C au maximum dans un four à moufle ;
- Ressortir après refroidissement les capsules ;

- Humecter une deuxième fois par 5 ml d'acide chlorhydrique 37% ;
- Mettre les capsules pour une deuxième fois sur la plaque chauffante jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Ajouter 1 ml d'Hcl (1N) ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans la même fiole jaugée 100 ml et laver avec de l'eau tiède ;
- Amener à 100 ml, complétant au trait de jauge après refroidissement avec l'eau bi distillée ;
- Mettre 20 ml de cette solution dans des tubes à essai.
- Réaliser l'atomisation à l'aide d'un atomiseur à flamme, la concentration de chaque élément est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalon.

III -2-2-5- Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101,1974)

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

Mode opératoire

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

Expression des résultats

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

(5)

$$A(\%) = \frac{175 \times V1}{V0 \times M}$$

Soit :

M : masse prélevée en gramme ;

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

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

III-2-2-6 Dosage des sucres

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

Avant les dosages, on prépare les solutions de Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de composition suivante :

➤ *Filtrat (1)*

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

➤ *Filtrat (2)*

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

•*Dosage des sucres totaux*

Mode opératoire

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

Expression des résultats

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

$$S_T = \frac{500}{V \times (V_2 - 0,05)} \times 10 \quad (6)$$

Soit :

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

V : volume de la prise d'essai ;

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

• Dosage des sucres réducteurs**Mode opératoire**

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

Expression des résultats

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_R = \frac{240}{V \times (V_1 - 0,05)} \quad (7)$$

Soit :

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

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

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

•Taux de saccharose

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

$$S = (S_T - S_R) \times 0,95 \quad (8)$$

Soit :

S : quantité de saccharose en g/l ;

S_T : quantité des sucres totaux en g/l ;

S_R : quantité des sucres réducteurs en g/l.

III-2-2-7 Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage direct par méthode iodométrique a été adopté.

Principe

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

Mode opératoire

- Prendre 50 ml de filtrat ;
- Ajouter 3 ml de l'acide sulfurique (H₂SO₄) à 0,1 N et quelques gouttes d'amidon à 0,5% comme indicateur coloré ;
- Titrer le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue ;

Expression des résultats

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

$$Y = N \times 20 \times 4,4 \quad \text{par litre. (9)}$$

Soit :

N : nombre de ml d'iode versés ;

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

III-2-2- 8 Extraction et dosage des polyphénols totaux

Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-ciocalteu (Singleton et *al.*1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique (H_3PMoO_{40}). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-ciocalteu en un complexe ayant une couleur constituée d'oxyde de tungstène ($W_8 O_{23}$) et de molybdène ($Mo_8 O_{23}$). L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Biozot et Charpentier, 2006).

Mode opératoire

Le matériel végétal broyé (10 g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (50 ml) pendant 72 h puis les extraits sont filtrés. Le dosage des polyphénols dans chaque extrait est adopté selon le diagramme suivant :

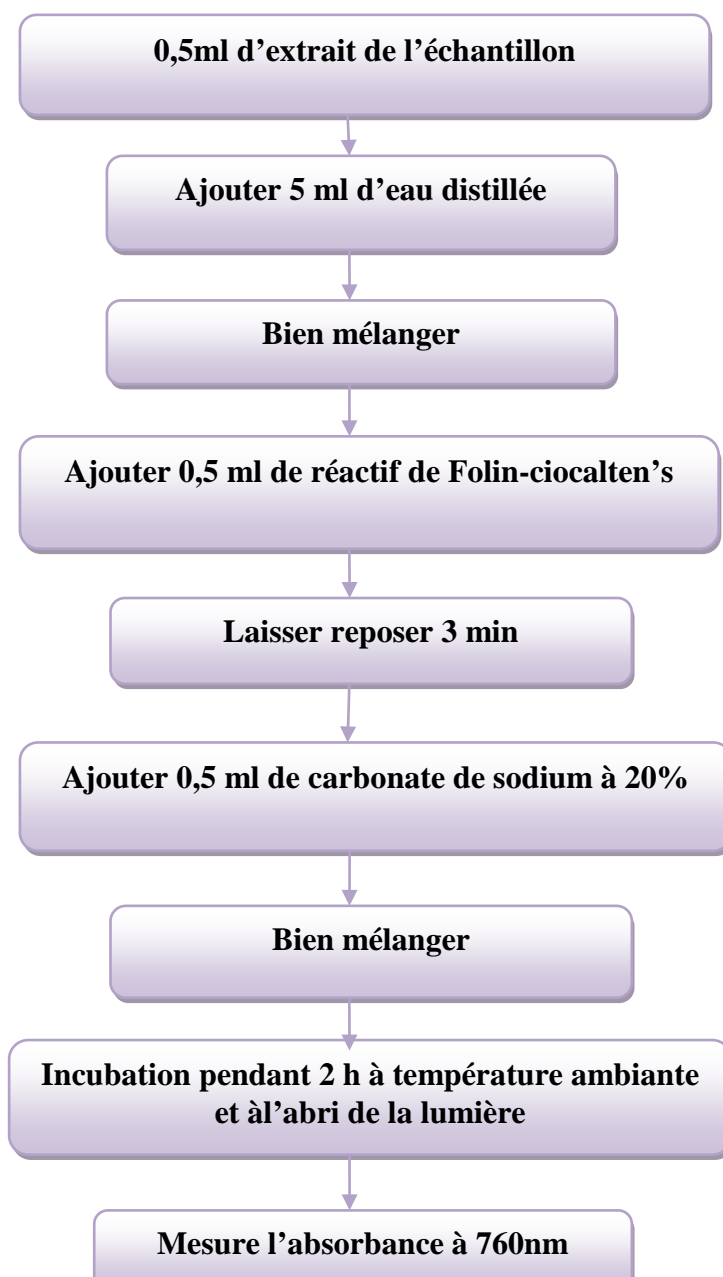


Figure 10 : diagramme de dosage des polyphénols totaux (Singleton *et al.*, 1999)

➤ ***Courbe d'étalonnage***

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant l'acide gallique comme standard (annexe 3).

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligramme d'Equivalent d'Acide Gallique par gramme de matière sèche de pelure de banane (mg EAG /g MS).

a- Dosage des flavonoïdes

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

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

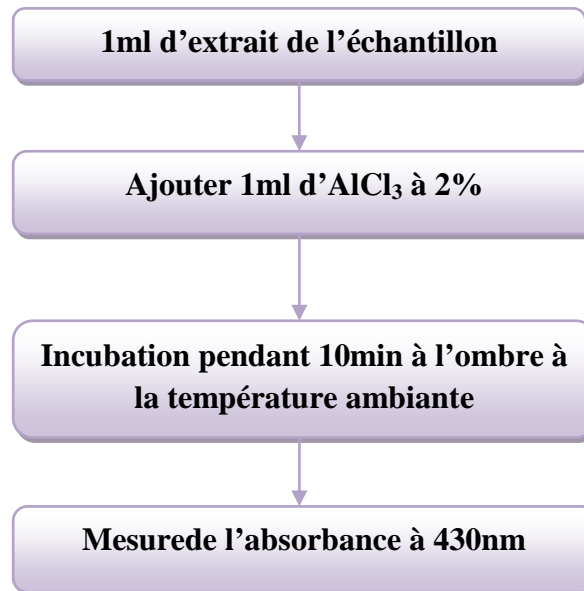


Figure 11 : Etapes de dosage des flavonoïdes (Kosalec *et al.*, 2004)

✓ ***Courbe d'étalonnage***

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la Quercétine comme un flavonoïde standard (annexe 4)

Expression des résultats

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

III-2-2-9 Extraction des tanins

L'extraction des tanins a été réalisée à partir de la pelure de banane suivant la technique d'extraction par des solvants (Byayem, 2002).

Remarque : Pendant l'étape d'extraction, certaines précautions ont été prises afin de protéger les tanins de toute dégradation éventuelle, en particulier de la lumière (Garcia, 2008). Cependant, la verrerie d'extraction a été entièrement recouverte de feuilles d'aluminium.

Mode opératoire

Pour cet essai d'extraction deux types de macération ont été réalisées : la première dans l'éther diéthylique afin d'éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique, la deuxième se fait dans le méthanol pour récupérer l'extrait méthanolique des tanins (Bruneton, 1999 ; Biayem, 2002). Les étapes sont présentées dans le diagramme de la Figure 11.

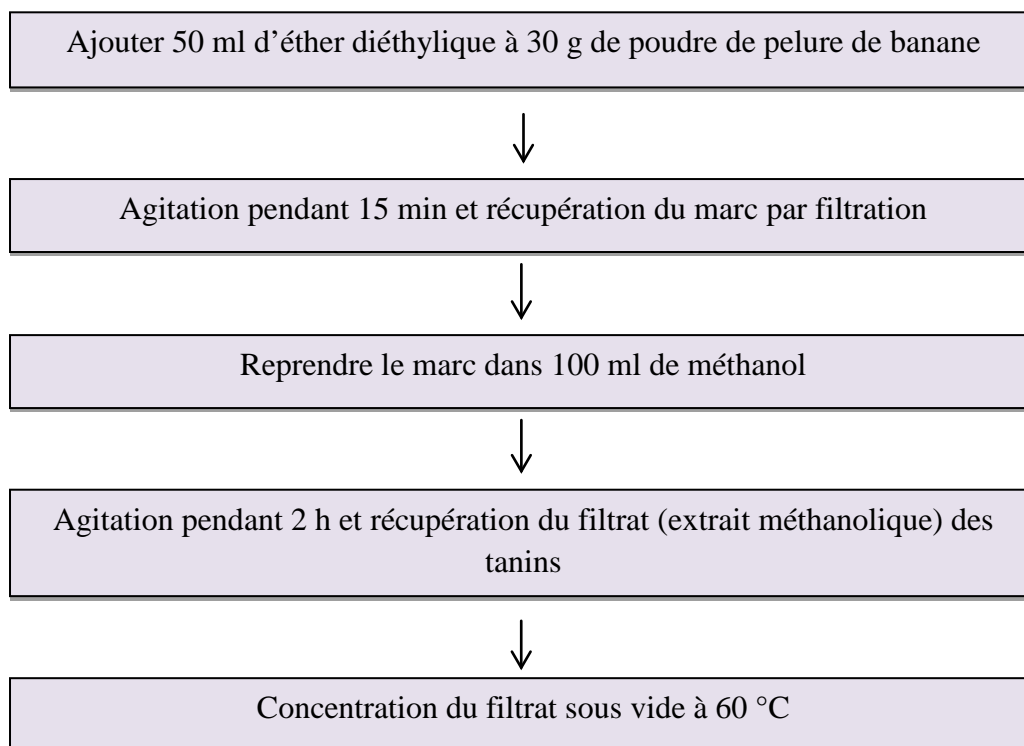


Figure 12: Etapes d'extraction des tanins par solvants (Byayem, 2002)

❖ *Rendement d'extraction*

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du liquide, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de l'échantillon soumis à l'extraction. Le rendement en tanins est calculé selon la formule donnée par FALLEH et ses collaborateurs en 2008 :

$$R(\%) = \frac{M_{ext}}{M_{ech}} \times 100 \quad (10)$$

Soit :

R(%) : rendement en pourcentage ;

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g ;

M_{éch} : la masse de l'échantillon utilisé en g.

L'extraction a été réalisée en triplicat, la moyenne des trois essais a été calculée pour chaque extrait.

III-2-2-10- Extraction des mucilages

Les mucilages sont des complexes de polysaccharide formés du sucre et les mucilages acides uroniques d'unités forment les masses gluantes dans l'eau, sont en général hétérogènes en composition (Divekar et al. ,2010). Les mucilages ont été extraits en utilisant la méthode décrite par (Hadi et Hosseinian, 2013).

Mode opératoire

- 5 g de poudre de la pelure de banane dans 200 ml d'eau distillée
- Incubation dans bain marie pendant 3h à 60°C sous agitation
- Les extraits ont été refroidis à température ambiante
- Centrifugés à 4000 tr/mn pendant 20 minutes
- Récupération du surnageant
- Filtration sous vide

Expression des résultats :

$$R(\%) = \frac{M_{ext}}{M_{ech}} \times 100 \quad (11)$$

Soit :

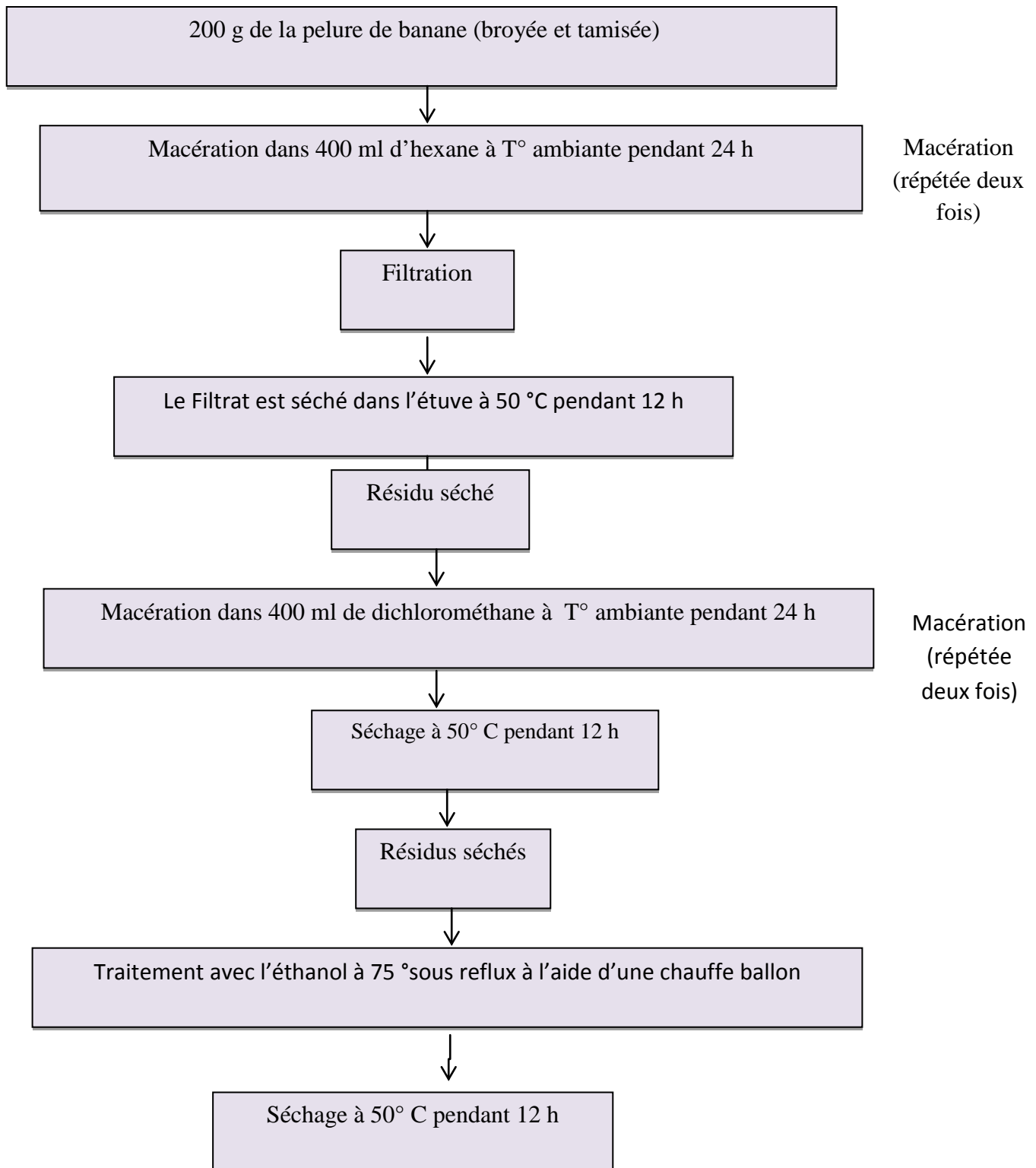
R(%) : rendement en pourcentage ;

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g ;

M_{éch} : la masse de l'échantillon utilisé en g.

III-2-2-11- Extraction des polysaccharides hydrosolubles

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles a été réalisée suivant les étapes présentées dans la (Figure12),



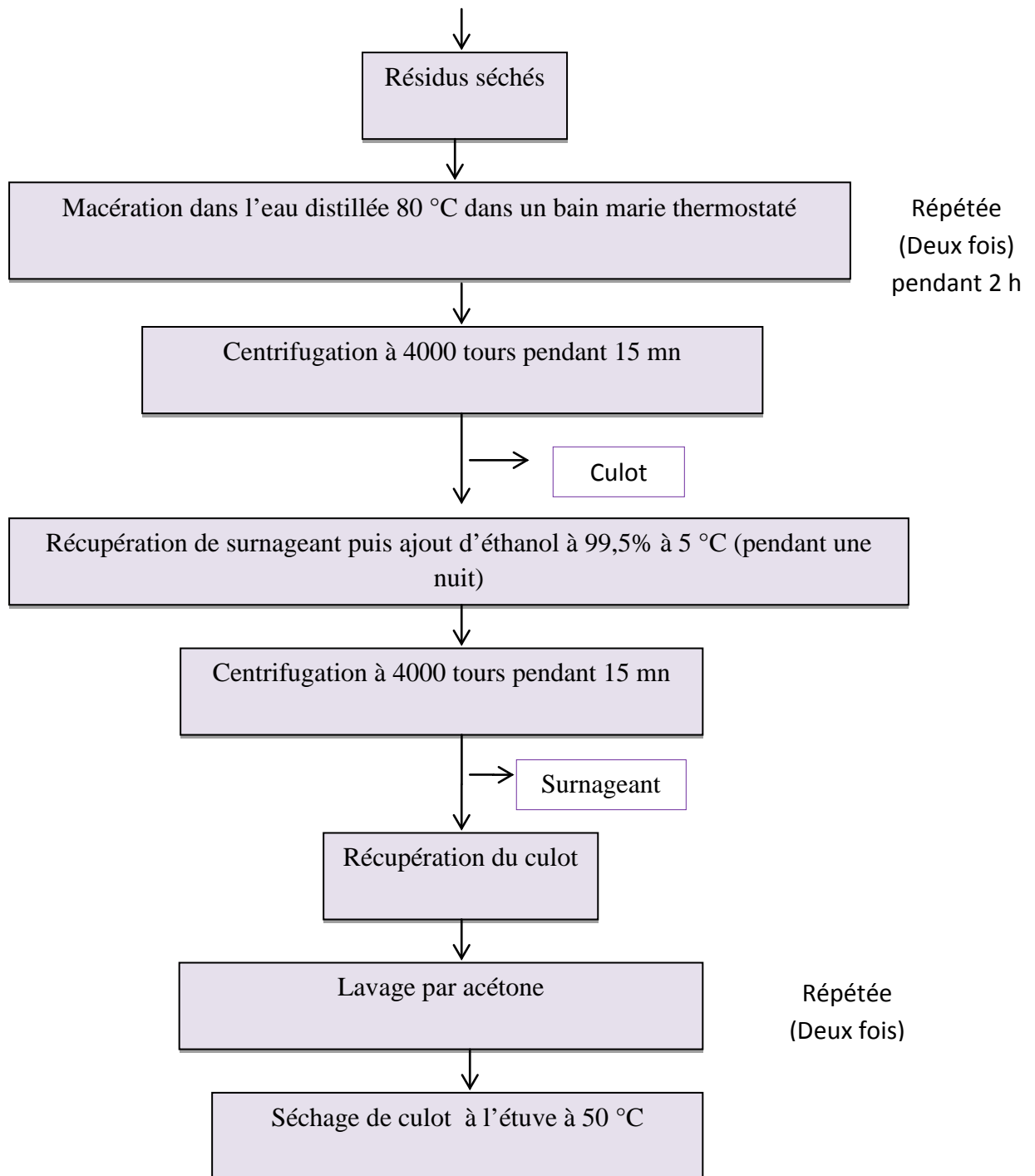


Figure 13 : étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles de la pelure de banane

Calcul de rendement d'extraction : le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$\frac{\text{Contenu des polysaccharides de l'extraction (g)}}{\text{Poids de la poudre de pelure de banane (g)}} \times 100$$

(13)

III -2-2-11- Extraction de la matière grasse

En vue d'obtenir un bon rendement riche en acide gras avec une méthode rapide et moins coûteuse deux méthodes sont utilisées.

- **Extraction par Soxhlet**

Principe

Le principe consiste à effectuer une extraction par un solvant organique à l'aide de dispositif Soxhlet d'une capacité de 350 ml. La pelure de banane est épuisée en matière grasse par le passage de solvant. On estime qu'une extraction est totale au bout de 2 heures. Le solvant utilisé est: l'hexane. Une fois l'extraction est terminée le solvant est éliminé à l'aide d'un Rotavapeur. Cette extraction repose sur le principe suivant : les composés apolaires comme les corps gras sont insolubles dans les composés polaires comme l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires tels que l'hexane. Le point d'évaporation de l'hexane étant inférieur à celui de la matière grasse à extraire, il est donc très facile de les séparer par chauffage.

Mode opératoire

- Peser 68 g de la pelure de banane séchée en notant le poids exact dans la cartouche qui suffira pour l'extraction.
- Placer la cartouche dans le soxhlet ;
- Introduire 350 ml d'hexane dans le ballon ;
- Réaliser alors le montage de l'appareil puis alimenter le réfrigérant en le branchant à un robinet ;
- Brancher la prise du chauffe-ballon et régler la température à 60° C pendant 1 h et 30 mn ;
- Débrancher le chauffe-ballon. Arrêter le robinet après refroidissement puis démonter l'appareil ;
- Chasser la majeure partie du solvant à l'aide du Rotavapeur
- Peser, après avoir séché le ballon à l'étuve le poids de la matière grasse obtenue

- **Extraction par macération à l-hexane**

Les étapes respectées pour extraire la matière grasse par macération dans le solvant sont présentées dans le diagramme de la Figure 13.

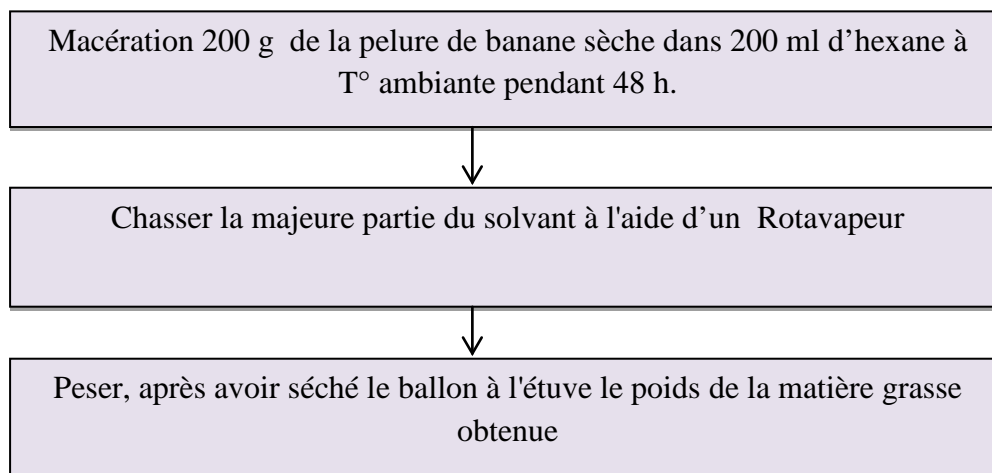


Figure 14 : Etapes d'extraction de la matière grasse de la poudre de la pelure de banane)

➤ **Estérification**

La Méthode utilisée est la trans-estérification à froid au moyen d'une solution méthanolique- d'hydroxyde de potassium pour la préparation des esters méthyliques d'acides gras.

Principe

Les esters méthyliques se forment par trans-estérification dans une solution méthanolique- d'hydroxyde de potassium comme phase intermédiaire avant la saponification (point 5 de la méthode ISO 5509:2000, point 5 de la méthode IUPAC 2.301).

Mode opératoire

- Mettre 0,1 g de l'échantillon d'huile dans une éprouvette à bouchon-à visse de 5 ml
- Ajouter 2 ml d'heptane ou hexane et agiter. Ajouter 0,2 ml de la solution méthanolique d'hydroxyde de potassium.
- Boucher à l'aide du bouchon muni d'un joint en PTFE, bien fermer et agiter énergiquement pendant 30 sec.
- Laisser reposer jusqu'à ce que la partie supérieure de la solution devienne claire.
- Décanter la couche supérieure, qui est celle qui contient les esters méthyliques.

- La solution d'heptane est prête pour l'injection dans le Chromatographe.(annexe 7)

III -2-3- Analyses rhéologiques de la poudre de la pelure de banane

III -2-3-1- Indice de gonflement

➤ *Principe*

L'indice de gonflement est le volume, en millilitres, qu'occupe 1 g de drogue gonflée dans l'eau, y compris le mucilage qui y adhère. Ce paramètre confirme la présence des polysaccharides (mucilages, gommés) dans la poudre de la pelure de la banane .

➤ *Mode opératoire*

Dans une éprouvette graduée à bouchon rodé, de 20 cm de hauteur sur 20 mm de diamètre, introduire 1 g de la pelure de banane pulvérisée. Humecter la poudre avec 1 ml d'alcool et ajouter 25 ml d'eau. Agiter énergiquement toutes les 10 min pendant 1 h. Laisser reposer pendant 3 h. Mesurer le volume occupé par la poudre. Effectuer 3 essais simultanément.

L'indice de gonflement est donné par la moyenne des 3 essais.

Les plantes à mucilages possèdent un indice de gonflement supérieur ou égal à 10.

(14)

$$IG = (V1+V2+V3) /3$$

III -2-3-2- Analyse de la granulométrie

Principe

C'est une méthode indirecte qui consiste à déterminer la répartition granulométrique par la technique de diffraction de la lumière Laser après mise en suspension de l'échantillon dans un dispersant (MASTERSIZER 2000).

Les particules passant devant un faisceau de Laser, provoquant une déviation de la lumière. La quantité de la lumière déviée est proportionnelle à la taille des particules. Ce type d'appareil permet de mesurer des particules sphériques à partir de 0,5 µm. Cette analyse a été réalisée à la Faculté des Sciences de l'Ingénieur (INGM) de l'Université de Boumerdès.



Figure 15 : Granulométrie Laser MASTERIZER 2000 version 4.0

III -2-4- Analyse de groupement par infrarouge

Principe

Laspectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse physique rapide, simple à mettre en œuvre et nécessite que peu de quantité de matière analyser, basée sur les transitions entre les états vibrationnels et rationnels d'une molécule. Elle est employée tout aussi facilement sur les échantillons bruts ou purifiés.

Certains groupements ou liaisons, considérés comme marqueurs peuvent révéler la présence de molécules associées (acide férulique, lignine et protéine) ou de certaines catégories de polysaccharides et notamment les fonctions acides et carboxyliques des acides galacturoniques.

Le spectre infrarouge de la poudre de la pelure de *Musa Acuminata* est obtenu par un spectromètre (BRUCKER). Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire chimie de SAIDAL . ALGER.

III -2-5- Activité antimicrobienne des substances bioactives extraites de la pelure de banane

Les différents extraits des substances extraites de la pelure de banane sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : Extraits testés vis-à-vis les souches microbiennes

Type de l'extrait de la substance testée	Méthode de préparation
Extrait aqueux de la pelure de banane	Macérer 2 g de poudre dans 20 mL d'eau distillée dans une zone stérile. Le macérât est conservé pendant une semaine dans un réfrigérateur à 4° C. Après conservation l'homogénat est filtré à l'aide d'une bande à gaz ou sur du papier Whatman.
Extrait éthanolique de la pelure de banane	On suit la même procédure que l'extrait aqueux mais dans ce cas la macération est faite dans l'éthanol (70%).
Extrait aqueux des polysaccharides hydrosolubles (EA)	Macérer 0,5 g de polysaccharides hydrosolubles dans 3 ml de l'eau distillée pendant 24h à 5° C.
Extrait éthanolique des polysaccharides hydrosolubles	Macérer 0,5 g de polysaccharides hydrosolubles dans 3ml de l'éthanol (70%) pendant 24h à 5°C.
Extrait des tanins	30 g de poudre de pelure de banane dans 50ml d'éther diéthylique et reprendre le marc dans 100 ml de méthanol
Les mucilages	- 5 g de poudre de la pelure de banane dans 200 ml d'eau distillée

La méthode de diffusion sur des disques dont le principe est la détermination de la sensibilité de ces souches microbiennes vis-à-vis les extraits à tester a été utilisée.

- **Matériel Biologique**

Est composé de deux souches fongiques (*Aspergillusniger etCandida albicans*) et de deux souches bactériennes (*Escherichia coli et Staphylococcus aureus*) fournies par le laboratoire de microbiologie de département Microbiologie-Biochimie biologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

- **Souches microbiennes utilisées**

Le test de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques (Polyphénols, flavonoïdes et tannins) de fruit étudié a été effectué sur deux bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*), et une levure (*Candida albicans*), et un champignon (*Aspergillus niger*) (Tableau III). Toutes les souches testées proviennent du laboratoire de microbiologie de l'Université de Tizi-ouzou.

Tableau III : Souches utilisées lors de l'activité antimicrobienne(annexe 9)

<i>Escherichia coli</i>	Bactérie Gram négatif	ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie Gram positif	ATCC25923
<i>Candida albicans</i>	Levure	/
<i>Aspergillus niger</i>	Moisissure	/

➤ Test antibactérien

Le premier jour : repiquage

Les souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) ont été repiquées sur milieu puis incubées pour une durée de 18 à 24 heures à 37° C avant de procéder aux tests de mesure de l'activité antibactérienne.

Le deuxième jour : préparation de l'inoculum

-Faire racler quelques colonies isolées des souches bactériennes utilisées à partir des boites repiquées la veille et les mettre dans des tubes à essais contenant de l'eau physiologique.

-Agiter bien la suspension mère sur un vortex puis mesurer la DO de chaque souche à une longueur d'onde de 620 nm.

Note : La DO de la suspension bactérienne doit être comprise entre 0,08 et 0,1 équivalent 10^8 UFC/ml

-Pipeter 1 ml de chaque suspension mère à l'aide d'une micropipette et le verser dans deux tubes à essais contenant 9 ml de l'eau physiologique.

- Deux inocula obtenus l'un contient la souche *Escherichia coli* et l'autre *Staphylococcus aureus*.

-Couler une gélose (d'agar Mueller- Hinton) dans une boite de Pétri.

-En utilisant une micropipette, prélever 100 µl de chaque inoculum et le faire étaler avec un râto sur le milieu.

-Laisser sécher à température ambiante de laboratoire pendant 10 minutes.

-à l'aide d'une pince, stérilisée par passage dans la flamme du bec bunsen, déposer 2 disques de papier buvard imprégner préalablement des extraits à tester et un autre disque d'antibiotique (Fox 30) comme témoin positif.

-Avec une pince stérile, appuyer légèrement sur les disques pour les faire adhérer à la gélose.

-Attendre 20 minutes à température ambiante (ce délai permet aux extraits de diffuser avant le démarrage de la culture) puis incuber la boîte retournée à 37 °C pendant 24 heures.

Le troisième jour : La lecture

A l'aide d'une règle graduée on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de la culture pour chacun des disques déposés en comparant au témoin négatif.

En fonction de la zone d'inhibition on peut distinguer :

-Diamètre \geq 25 mm : La bactérie est dite « sensible » aux extraits ;

-Diamètre \leq 8 mm : La bactérie est dite « résistante » aux extraits ;

-Dans les autres cas la bactérie est dite « intermédiaire »

a- Test antifongique

Pour *Candida albicans*, on utilise la même technique utilisée pour les bactéries mais le temps et la température d'incubation sont différents (48 heures d'incubation à 30° C) et aussi le milieu de culture (le milieu PDA).

✓ Préparation de la suspension

-Pour *Aspergillus niger*, la suspension est préparée à partir d'une culture de 7 jours sur milieu après avoir repiquée sur une gélose de PDA. La suspension est préparée dans de l'eau physiologique contenant du tween 80 et ajustée à 10^5 conidies/ml après comptage à la cellule de Malassez.

✓ La technique (annexe 5)

-couler une boîte de Pétri avec du milieu PDA (4 mm de hauteur)

-prélever 100 µl de la suspension préparée et l'étaler sur le milieu

-mettre la boîte dans l'étuve à 30° C pendant 5 jours

-Prendre 1 ml de chaque extrait et le mettre dans des différentes boîtes de Pétri

-Après avoir liquéfié le milieu solide au bain mari laisser refroidir puis le verser dans les boîte de Pétri. Après 5 jours d'incubation et à l'aide de la partie supérieur d'une pipette Pasteur, inoculer la gélose par la suspension des spores (0,1ml) à l'aide d'un râteau.

-Déposer des disques imbibées par les chaque extrait sur la gélose.

-Laisser les boites 20 minutes à la température de laboratoire pour que les disques s'adhèrent sur la gélose puis les incuber à 30° C pendant 5 jours.

b- Expression des résultats

Après 5 jours d'incubation, faire une observation de la croissance d'*Aspergillus niger* autour des disques déposés au milieu des boites de Pétri contenant les différent extraits testés.

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV -1 Résultats d'analyse phytochimique de la pelure de banane

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant la poudre de la pelure de banane a été faite selon la méthode standard du screening phytochimique. On affirme la présence ou l'absence des métabolites secondaires dans la dite poudre soit par l'intensité de précipité formé (la turbidité) ou par la coloration.

Ces métabolites sont présentés ainsi :

- 1) (+) : présence en faible quantité.
- 2) (++) : présence en quantité moyenne.
- 3) (+++) : présence en forte quantité
- 4) (-) : absence des composés

Les résultats des tests phytochimiques obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau IV : résultats de l'analyse phytochimique de la pelure de banane

Métabolites secondaires	Observation	Résultat
Anthocyanes	Absence de couleur rouge	-
Tanins	Coloration bleu noire	+++
Tanins galliques	Coloration bleu foncée	+++
Flavonoïdes	Coloration rouge orangée	+++
Saponosides	Absence de mousse	-
Quinones libres	Absence de couleur rouge violette	-
Quinones combinées	Absence de couleur rouge	-
Alcaloïdes	Absence de précipité rouge	-
Glucosides	Coloration rouge brique ensuite violette	+++
Coumarines	Apparition d'un trouble	+++
Sennosides	Absence de couleur jaune ou orangée	-

Nous constatons d'après le tableau IV l'absence des anthocyanes, les saponosides, les quinones libres, les quinones combinées, les alcaloïdes et les sennosides au niveau de notre

échantillon. Notant que, Fatoumata, (2012) a rapporté l'absence des anthocyanes et les alcaloïdes dans une étude faite sur l'épicarpe de la banane de la variété *Musa acuminata*

En ce qui concerne les tanins, les tanins galliques, les flavonoïdes, les glucosides et les coumarines leur présence est confirmée. D'autre part, d'autres chercheurs ont rapporté la présence, des tanins dans la pulpe et la peau de banane de la même variété (Sundaram et al., 2011 ; Someya et al., 2011). La richesse de la pelure de banane en métabolites secondaires leur confère des propriétés pharmacologiques importantes, d'où leur utilisation en médecine traditionnelle.

IV -2- Caractérisation physico-chimique de la pelure de banane

Les résultats de la caractérisation de certains paramètres physicochimiques de la pelure de banane sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau V: résultats de paramètres physicochimique de la pelure de la banane

<i>Paramètres physico-chimiques</i>		Poudre de la peau de banane
<i>pH à 20°C</i>		5,52±0,085
<i>Acidité titrable (%)</i>		0,21±0,074
<i>Teneur en eau (%)</i>		3,22±2,64
<i>Teneur en cendres (%)</i>		12±0,04
<i>Sucres (g/l)</i>	<i>Sucres totaux</i>	28 ,775±0,88
	<i>Taux de saccharose</i>	26,41
	<i>Sucres réducteurs</i>	0,97±0,113
<i>Acide ascorbique (mg/l)</i>		0
<i>Matière organique (%)</i>		87,99±0,03

L'analyse de la teneur en eau au niveau de la poudre de la pelure de banane montre un taux estimé à 3,22±2,64%. Ce résultat est inférieur à celui de déclaré par Bouakline, (2015) qui signale une valeur de 4,08 % pour la peau de banane. En outre, cette poudre possède un pourcentage élevé en matière sèche indiquant une richesse en substances biologiques.

Les résultats obtenus montrent que la pelure de banane présente un pH acide défavorable à la prolifération des bactéries, des levures et des moisissures. Ce pH est proche à celui de la peau de banane (5,786) étudiée par Bouakline, (2015).

La teneur en cendres constituant la pelure de banane est presque similaire à celle déclarée par Fatoumata, (2012) qui rapporte une teneur de 11,9% caractérisant la pelure de banane *Cavendish acumina*.

Dans la présente étude, la poudre de la pelure de banane présente une acidité titrable très faible.

Les éléments minéraux trouvés sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau VI : résultats des éléments minéraux de la poudre de pelure de banane.

éléments minéraux	Cr	Ca	Zn	Fe	Pb	Cd	Cu	Na	K	Mg
Quantité (g/l)	0,27	2,874	0,587	1,565	0,116	0	1,016	11,905	5,262	2,346

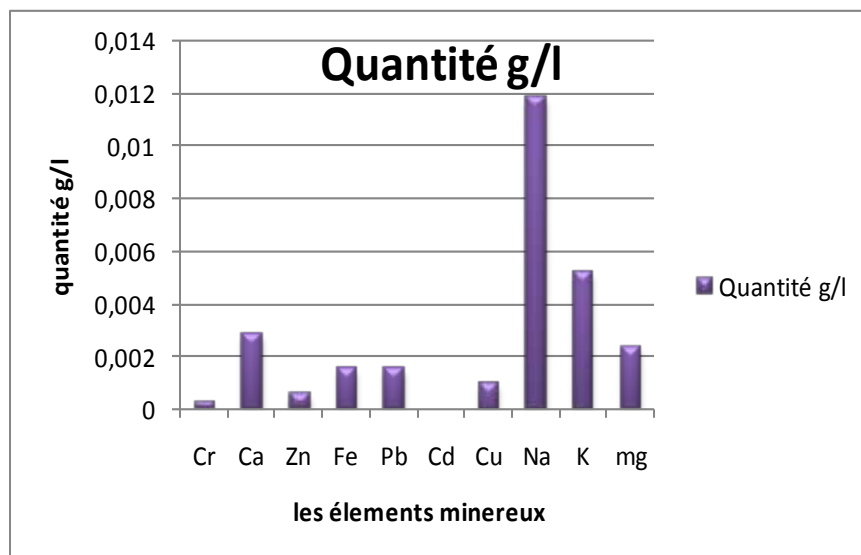


Figure 16: compositions minérales de la pelure de la banane

Nous remarquons d’après ce tableau que, la poudre de la pelure de banane représente une source importante en éléments minéraux (sodium, potassium, calcium et magnésium). Il

serait intéressant de recommander l'utilisation de cette poudre afin de remédier aux carences en minéraux que la population connaît et notamment dans les pays en voie de développement.

La pelure renferme aussi des teneurs moyennes en fer, cuivre, zinc, chrome et plomb qui restent acceptables de point de vue de toxicité. Cependant, le métal Cd est absent.

Les résultats du tableau V révèlent aussi l'absence de la vitamine C. L'absence de cette dernière peut s'expliquer soit par le stade de maturation qui est poussé ou l'effet de séchage qui influence négativement la conservation de ladite vitamine.

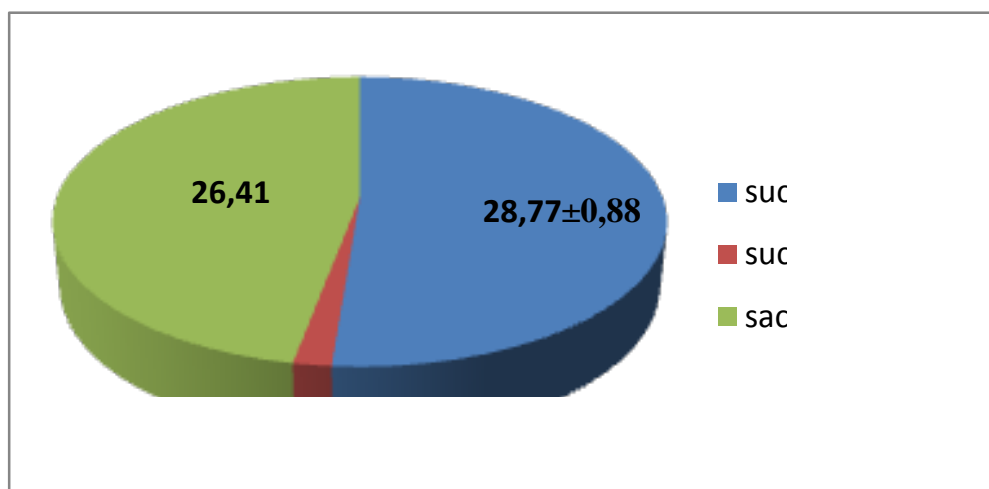


Figure 17 : composition de la pelure de la banane en sucres

Nous constatons d'après la figure 17 que la pelure de banane étudiée possède une teneur importante en sucres totaux et en saccharose alors que les sucres réducteurs sont présents à faible teneur.

Les composés phénoliques totaux de la pelure de banane sont plus importants dans l'extrait éthanolique ($123,83 \pm 1,24 \mu\text{g EAG/g MS}$) que dans l'extrait aqueux ($91 \pm 1,50 \mu\text{g EAG/g MS}$).




De même, l'extrait éthanolique constitue une teneur élevée en flavonoïdes ($78,8 \pm 1,81 \mu\text{g EQ/g MS}$) en comparaison avec celle que représente l'extrait aqueux ($45 \pm 0,60 \mu\text{g EQ/g MS}$).

Nous comparons ces résultats, nous pouvons conclure que la concentration des polyphénols totaux est plus élevée par rapport aux flavonoïdes et ce pour les deux types de solvants utilisés. Nous pouvons conclure que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction de molécules bioactives en raison de sa forte polarité.

IV -3- résultats d'extraction de quelques molécules bioactives

Les résultats d'extraction des tanins, des polysaccharides hydrosolubles, des mucilages de la pelure de banane sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VII: rendements en substances bioactives de la pelure de banane

Masse prise d'essai (g)	Rendement (%)	pH à 20 °C	Photographie
19,5	65±5,65%	3,33±0,21	 Tannins
200	2,2±0,424%	4,99±0,09	 Polysaccharides hydrosolubles
5	0,5±0,07%	4,99±0,83	 Mucilages

Le rendement d'extraction des tanins de la pelure de banane par la méthode de macération par solvants est très élevé. Nous suggérerons d'utiliser ces tanins comme substances à effets thérapeutiques (cicatrisante ou anti-diarrhéique) et peuvent jouer un rôle majeur en tant qu'agents antimicrobiens.



Nous signalons un rendement faible de polysaccharides hydrosolubles. Ces substances peuvent avoir plusieurs propriétés thérapeutiques à savoir des propriétés laxatives, anti diarrhéiques, immunomodulatrices, anticancers (Bruneton, 1993, Ooi et Liu, 2000)

Concernant les mucilages le tableau VII révèle un très bon rendement. Cette substance peut avoir un intérêt dans les industries agroalimentaires comme gélifiant ou pour fabriquer de la confiture.

- **Résultats d'extraction de la matière grasse**

Les résultats des matières grasses extraites de la pelure de banane sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII : résultats d'extraction de la matière grasse de la pelure de banane

Masse prise d'essai (g)	Rendement (%)	pH à ...	Photographie de matière grasse
Extraction au Soxhlet 58	2.58 ±0,79%	7.06±0,18	
Extraction par macération directe dans l'hexane 200	2.66 ±0,65%	6.83±0,19	

Les deux matières grasses obtenues sont soumises à une estérification. Le tableau VIII regroupe les différents résultats obtenus.

Tableau IX: résultats de profil d'acides gras des deux matières grasse

Composition et teneur en acides gras en (%)			
Acide gras	Dénomination	MG ₁	MG ₂
C12 :0	A.laurique	4.25	0.51
C14 :0	A.myristique	3.59	0.79
C16 :0	A.palmitique	32.77	30.77
C16 :1ω7	A.palmitoléique	Trace	3.89
C17 :0	A.Margarique	Trace	1.66
C18 :0	A.stéarique	2.05	4.35

C18 : 1ω9	A.oléique	7.65	13.82
C18 : 2ω6	A.linoléique	27.00	25.03
C18 : 3ω3	A.inoléique	22.65	19.14
C20 : 0	A.arachidique	-	-
C20 : 1ω9	A.gondoïque	-	-
C22 : 0	A.béhénique	-	0.003

Sachant que :

MG₁ : matière grasse extraite par macération de la pelure de banane sèche dans l’hexane

MG₂ : matière grasse extraite de la pelure de banane sèche par Soxhlet

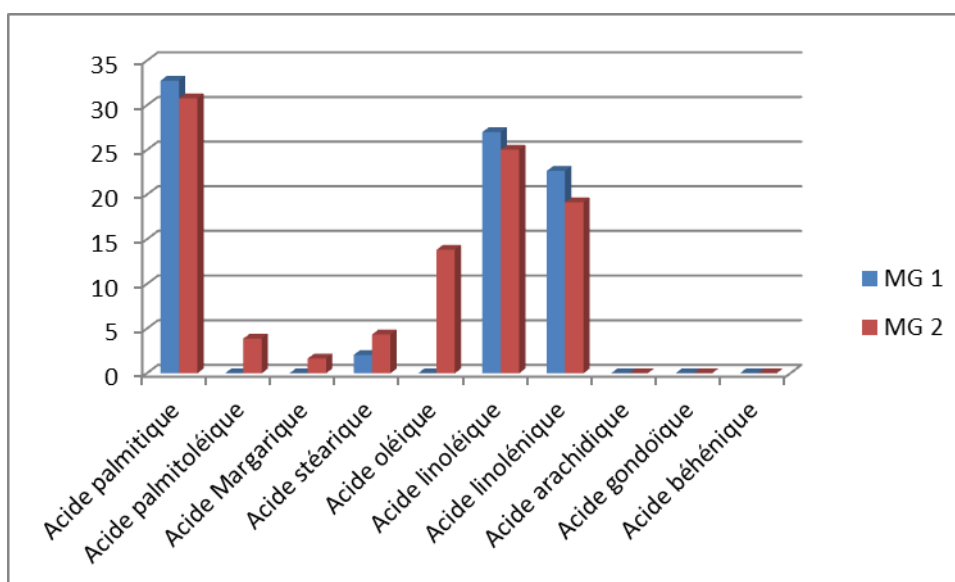


Figure 18 : comparaison entre les acides gras des deux matières grasses

Sept acides gras sont identifiés dans la pelure de la banane étudiée (Figure 18) à savoir l’acide laurique, myristique, palmitique, palmitoléique, Margarique, téarique, et l’acide béhénique à différents pourcentages dans les deux matières grasses extraites. L’extraction par Soxhlet s’avère la meilleure favorisant l’extraction de maximum d’acides gras en comparaison avec la deuxième méthode induisant la disparition de certains acides gras. En effet, quatre acides sont majoritaires (oléique, linoléique, linoléique et palmitiques). Dont l’équilibre entre oméga 6 et oméga 3 permet de réduire le risque de maladie cardiovasculaire en diminuant le taux de triglycéride dans le sang dans l’organisme humain.

A la lumière de ces résultats nous pouvons conclure que la pelure de banane constitue une source des substances bioactives de hautes valeurs biologiques.

IV -4- Résultats d'analyses rhéologiques

IV -4- 1- Indice de gonflement

Résultats d'indice de gonflement sont illustrés dans la. Figure 19



Figure 19 : résultats d'indice de gonflement de poudre de pelure de banane

Après 3 h de repos, deux phases sont observées une présente les particules gonflées et l'autre le surnagent. La poudre de la pelure de banane possède des mucilages (IG= $16 \pm 0,3$ %).

IV -4- 2- Résultats d'analyse de la granulométrie

Les résultats de la distribution granulaire sont illustrés dans la figure ci-dessous :

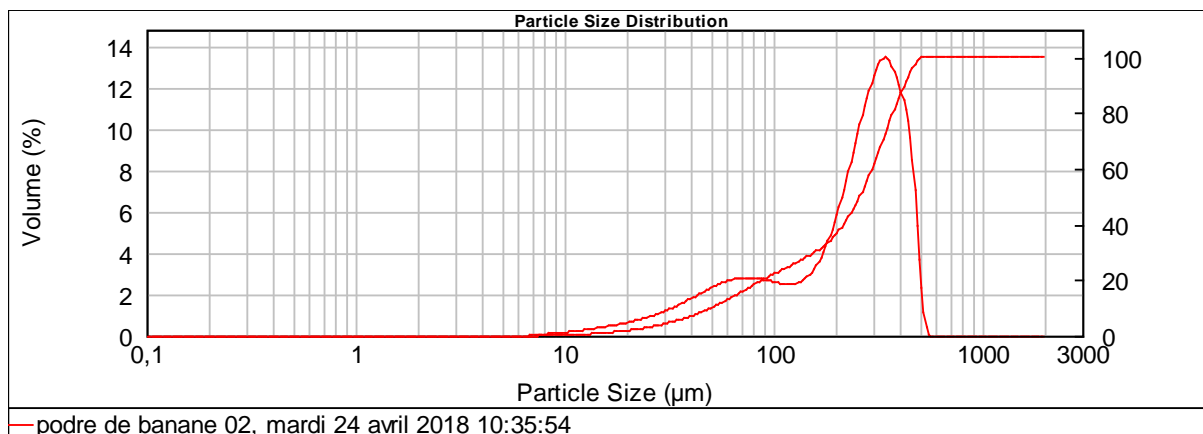


Figure 20 : Distribution granulométrique de la poudre de pelure de la banane

Nous remarquons d’après cette Figure que la poudre analysée possède un grain majoritaire de taille moyenne qu’est de l’ordre 482 µm. Cette valeur est proche à celle annoncée par Bouakline, (2015) travaillant sur la poudre de la pelure de banane qui a rapporté une granulométrie des particules avec un diamètre moyen de 363 µm.

IV -4-3- Analyse de groupements fonctionnels par infrarouge

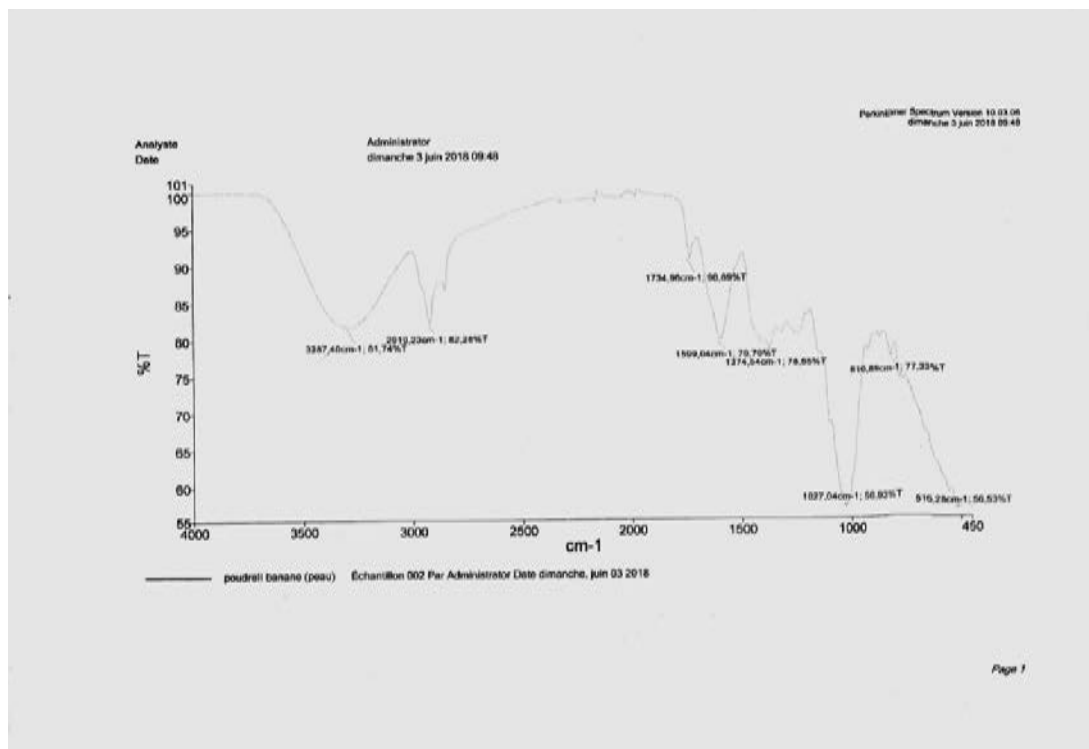
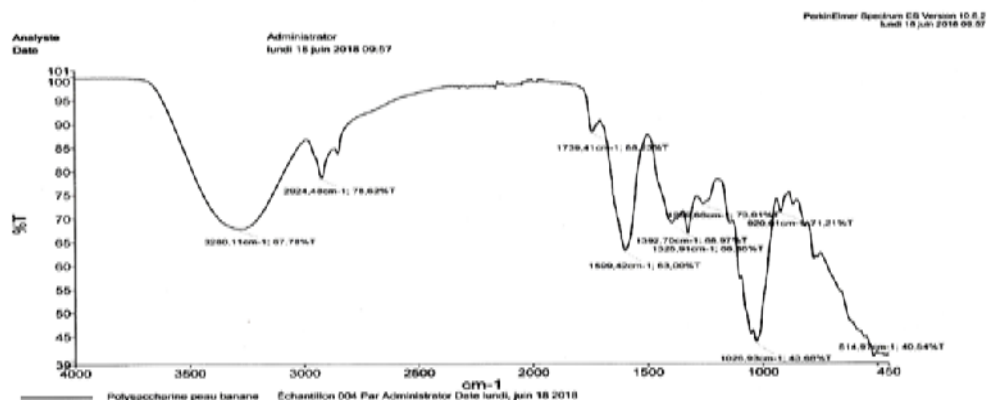


Figure 21 : résultat infrarouge de la poudre de la pelure de la banane



Page 1

Figure 22 : résultat infrarouge des polysaccharides

D'après les résultats de l'analyse spectroscopique IR de la poudre de la pelure de *Musa Acumunata*, on remarque qu'elle présente plusieurs pics d'absorption.

Les absorptions observées aux alentours des 1592 cm^{-1} , sont attribués aux groupements carboxylates (-COO-) (Britto et al,2004). Dans cette zone, la large bande située à 1592 cm^{-1} correspond plus spécifiquement à la vibration d'élongation de la fonction C=O du groupement carboxylique (COOH) de l'acide galacturonique (Barkaet al, 2013). Le signal observé à $3286,37\text{ cm}^{-1}$ sont spécifique des vibrations des liaisons C-O-C et C-O-H des structures polysaccharidiques (Schmitt et Flemmin, 1998 ; Edwards et al, 1998).

IV -5- Résultats d'activité antimicrobienne

Quatre extraits issus de la pelure de la banane ont été testés pour l'activité antimicrobienne vis-à-vis quatre souches étudiées dans ce travail. Le tableau X et les Figures (.....) récapitulent les résultats obtenus.

Tableau X : Diamètre des zones d'inhibition des extraits de la pelure de la banane contre les souches testées

Souches Etudiées	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Extraits testés			
Extrait aqueux des polyphénols	–	–	–
Extrait éthanolique des poly phénols	20±1,41	–	20±1,415
Extrait aqueux des polysaccharides hydrosolubles	–	–	–
Extrait éthanolique des polysaccharides hydrosolubles	15±1,41	–	15±0,70
Mucilages	–	–	–
Tanins	35±1,41	35±0,70	20±0,70
Témoin positif (fox 30) (antibiotique) L'antifongique (fongizone)	2±0,70	32±0,70	14±1,69

Nous remarquons d'après ce tableau que presque tous les extraits de la pelure de banane testés se sont révélés actifs avec des effets d'inhibition différents vis-à-vis toutes les souches sauf pour *A.niger* qui s'avère résistante.

Cette inhibition peut s'expliquer par la présence de molécules bioactives citant les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les polysaccharides à différentes concentrations.

Les tanins ont exercé un effet inhibiteur le plus puissant, les plus grandes zones d'inhibition sont observées avec des diamètres d'inhibition ($\emptyset = 35$ mm ; $\emptyset = 20$ mm) contre *E. coli* et *S.aureus* respectivement. Cependant, *C.albicans* a montré une faible zone d'inhibition (moins sensible) en comparaison aux souches bactériennes testées ($\emptyset = 20$ mm).

En effet, l'effet inhibiteur de ces extraits dépend de la structure bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (Ali-Shtayeh et al., 1998)

Les extraits éthanoliques des polyphénols et des polysaccharides ont exercé un effet inhibiteur avec des diamètres ($\emptyset = 20$ mm ; $\emptyset = 15$ mm) contre *E. coli* et *C. albicans* respectivement. Ces dernières souches dites intermédiaires vis-à-vis les extraits éthanoliques des polyphénols et des polysaccharides. Ces résultats sont semblables à ceux déclarés par Jain et al., (2011) qui ont rapporté que l'extrait éthanolique de la peau de banane

montre des activités antibactériennes contre quatre bactéries à Gram négatif et quatre bactéries à Gram positif avec des zones d'inhibition variant de 9-24 mm.

Nos résultats montrent aussi l'absence de l'activité antimicrobienne des mucilages et aussi les deux extraits aqueux des poly phénols et des polysaccharides vis-à-vis les souches testées en comparant aux extraits éthanoliques.

Cette différence s'explique par le faite que l'éthanol a une polarité supérieure à celle de l'eau distillée provoquant ainsi une meilleure extraction des substances ayant un effet inhibiteur.

On note aussi que les tanins agissent sur la croissance du thalle d'*Aspergillus niger* provoquant ainsi un ralentissement de l'allongement des filaments mycéliens par rapport aux autres extraits testés qui n'ont cependant aucun effet sur l'inhibition de la croissance de ce champignon .

Nous pouvons conclure que l'étude de l'effet dose de ces extraits semble être intéressent afin de déterminer la concentration létale des substances présentes dans ces extraits.

Z : zone d'inhibition

D : Disque

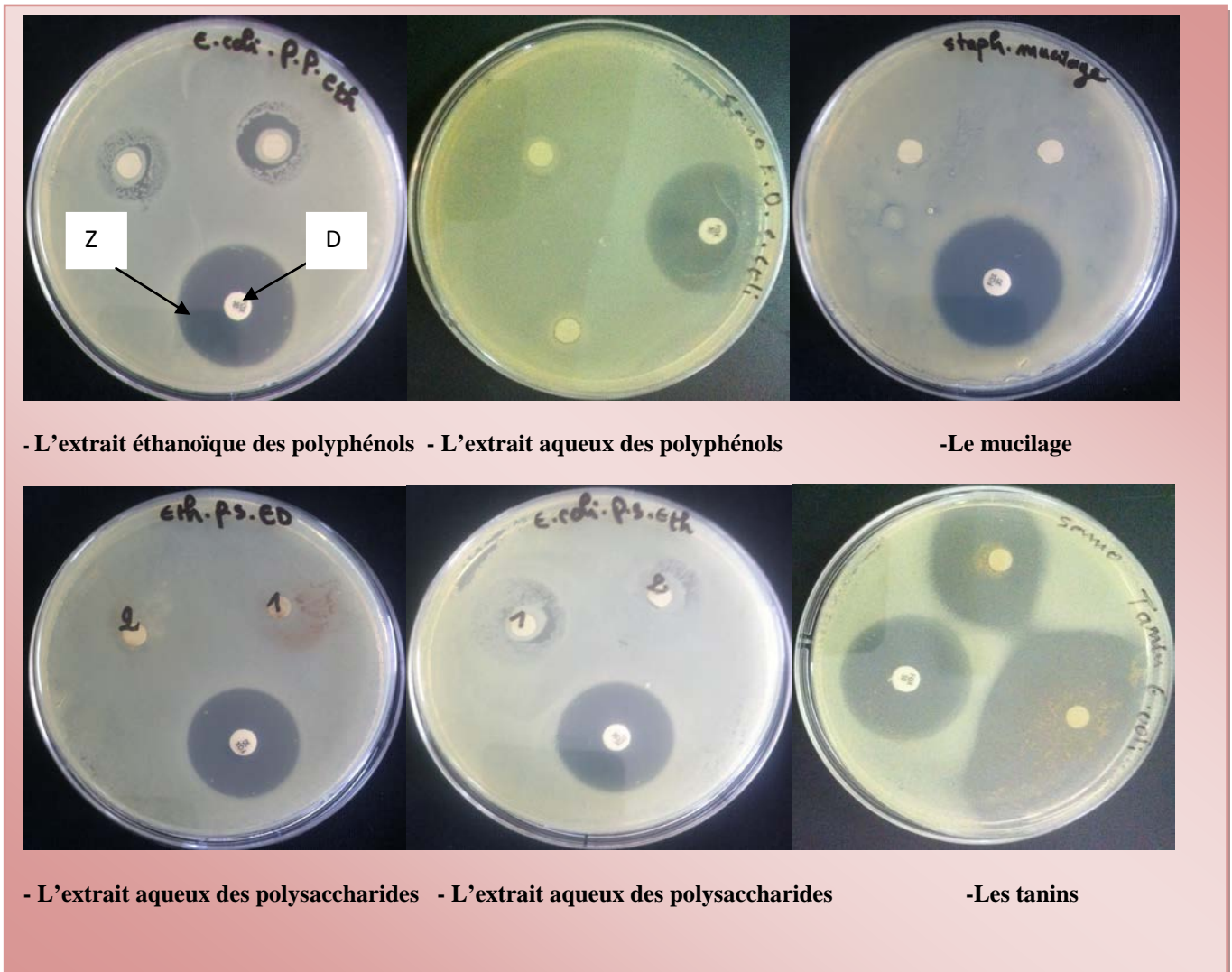


Figure 23 : Les photographies des zones d'inhibitions de différents extraits de la pelure de la banane vis-à-vis la souche *Escherichia coli*

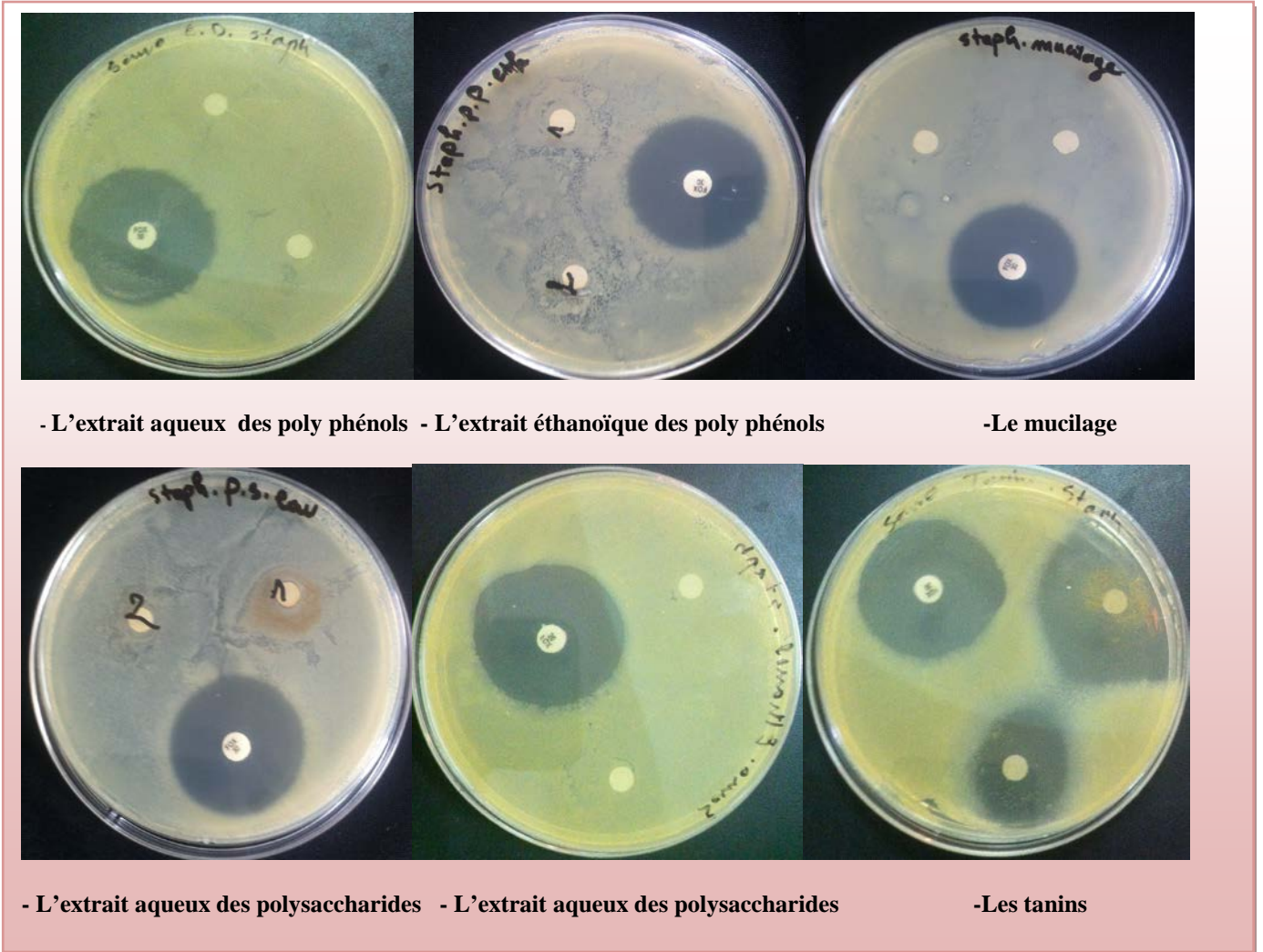


Figure 24 : Les photographies des zones d'inhibitions de différents extraits de la pelure de la banane vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus*

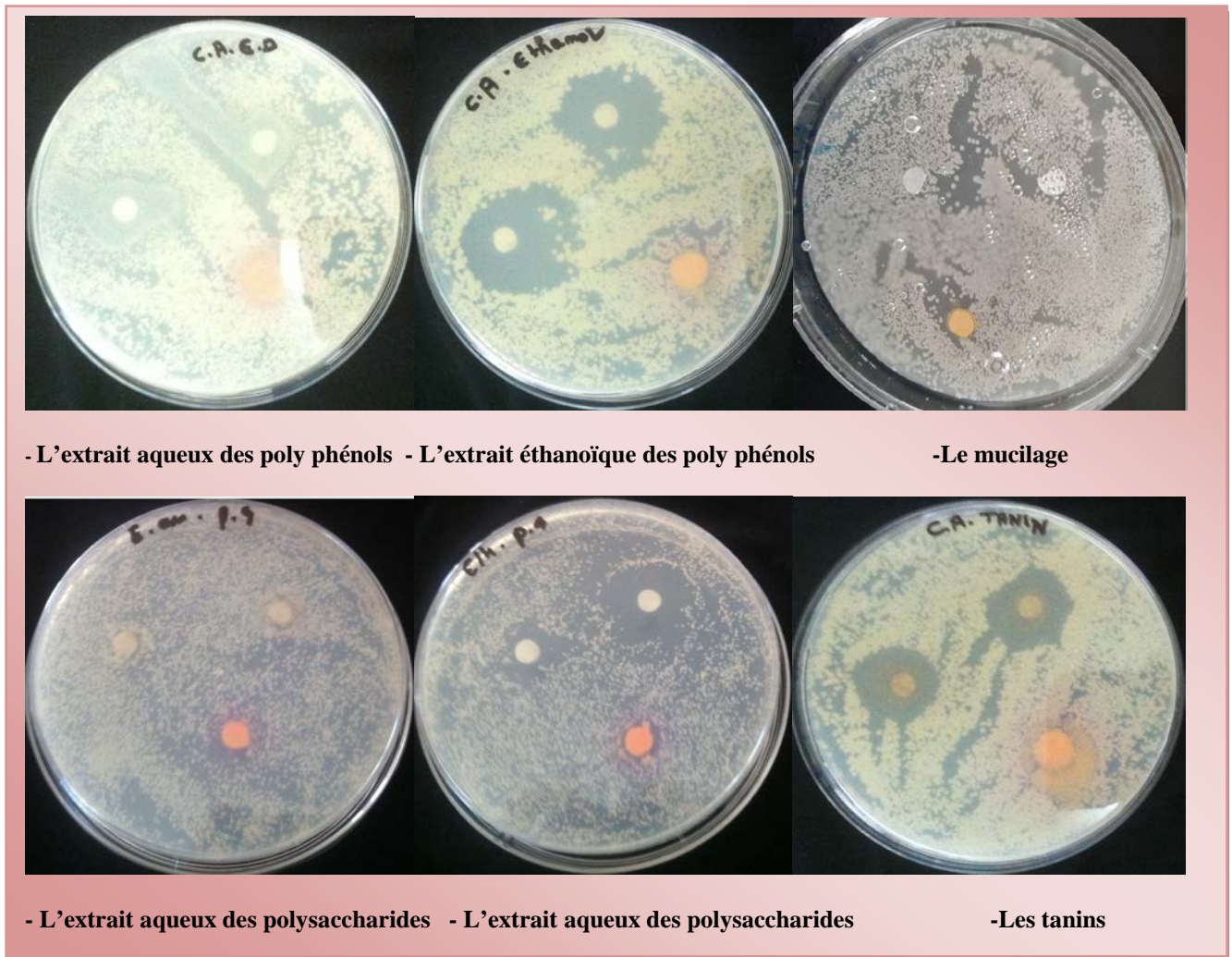


Figure 25 : Les photographies des zones d'inhibitions de différents extraits de la pelure de la banane vis-à-vis la souche *Candidat albicans*

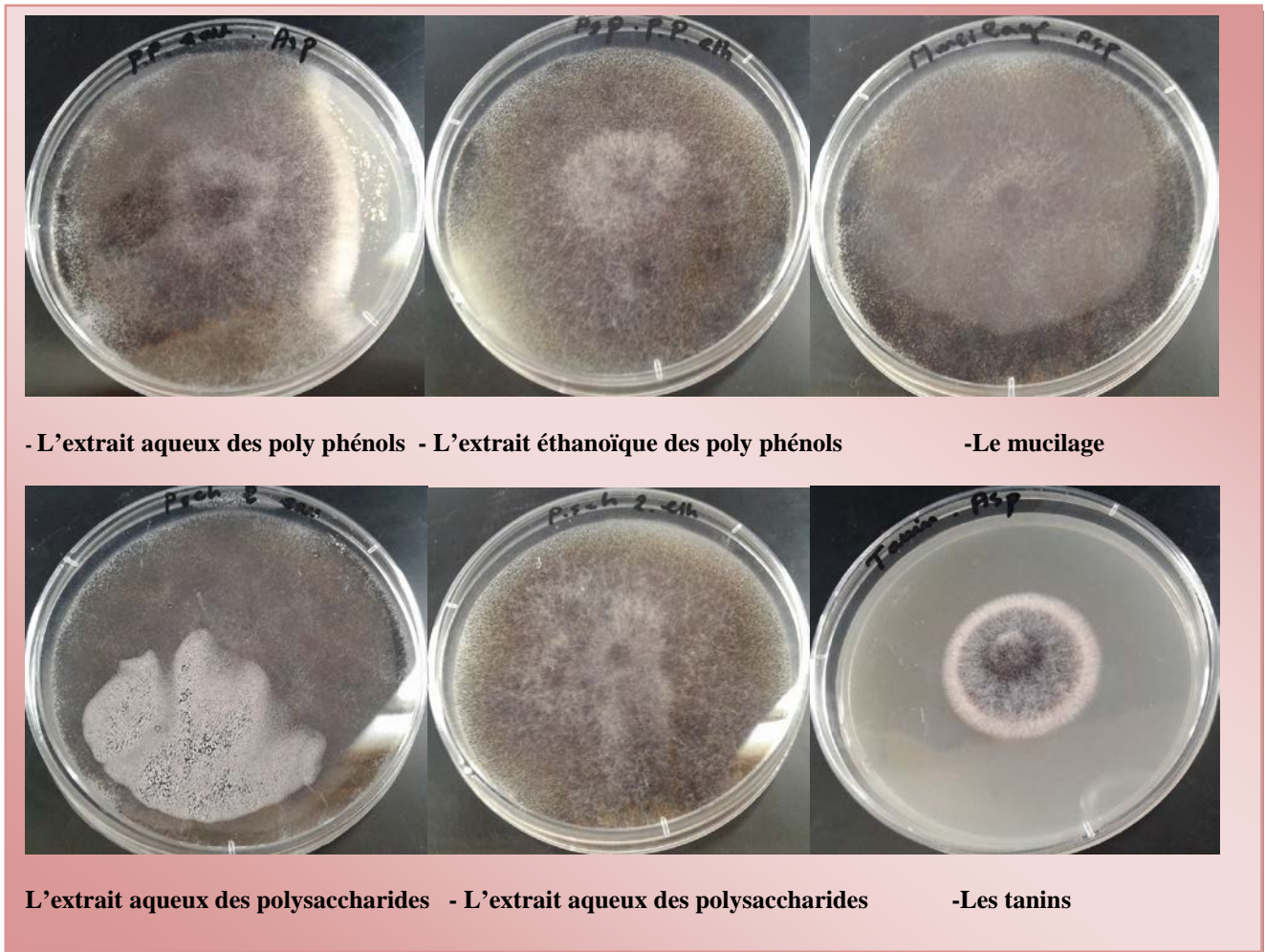


Figure 26 : Les photographies des zones de croissance d'*Aspergillus niger* à la présence de différents extraits de la pelure du fruit étudié.

Conclusion générale

Ce travail nous a permis de connaître les différents composés bioactifs constituant la poudre de la pelure de banane de sous- groupe Cavendish *Musa acuminata* AAA.

L'étude phytochimique de la pelure de banane montre la présence des polypénols, des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des glucosides et des mucilages.

Cette étude de recherche a permis aussi la caractérisation physicochimique et microbiologique de la poudre de la pelure de la banane qui présente des substances bioactives qui sont connues par leurs activités biologique et pharmacologique. Les techniques d'extraction par des solvants ou par d'autres réactifs et aussi la méthode de dosage nous a donné les différents rendements en ces substances, celui des tanins ($56 \pm 5,65\%$) qui est le plus important d'après notre étude, les polysaccharides ($2,2 \pm 0,424\%$), les flavonoïdes ($45 \pm 0,6 \mu\text{gEQ/g}$ pour l'extrait aqueux et $78,1,81 \pm 1,81 \mu\text{g/Eg/g}$) pour l'extrait éthanolique, les polyphénols ($91 \pm 1,50 \mu\text{g/EAG/g}$); ($123,83 \pm 1,24 \mu\text{g/EAG/g}$) pour les deux extraits aqueux et éthanolique respectivement, les mucilages ($0,5 \pm 0,7\%$) et les deux matières grasses ($2,58 \pm 0,79\%$); ($2,66 \pm 0,65\%$). Ces derniers contiennent des acides gras tels que l'acide palmitique, oléique et linoléique avec les valeurs ($89 ; 7,65$; $13,82$; $27,00$ et $25,03$) mg.

Notant aussi que certaines propriétés physiques (pH, l'acidité titrable, l'humidité et la teneur en cendres) ont été analysées sur la poudre de la pelure étudiée.

Et enfin, l'activité antimicrobienne de différents extraits des substances bioactives de la pelure a été déterminée sur quatre souches (*E.coli* ; *S.aureus* ; *C.albicans* et *A.niger*). Toutes les souches sont inhibées par les tanins avec une bonne zone d'inhibition variant de 20 à 35 mm de diamètre et des zones d'inhibition moyenne (15 à 20 mm) en testant les extraits éthanoliques des polyphénols et des polysaccharides contre la majorité des souches testées sauf la souche *S.aureus* qui s'avère résistante contre les mêmes extraits.

Compte tenu de ces résultats obtenus, nous pouvons conclure que la pelure de la banane Cavendish a une importance particulière comme source de molécules bioactives ayant des propriétés thérapeutiques. Parmi ces principes actifs les tanins, les polyphénols et les polysaccharides. Cependant, les études récentes ont montré que les substances extraites de la pelure de la banane présentent des activités importantes notamment le pouvoir antimicrobien.

Les tanins pourraient être un antimicrobien puissant pour lutter contre des infections causées par les différentes souches microbiennes. D'autre part, Il serait intéressant d'utiliser cette pelure de banane dans le domaine thérapeutique afin de fabriquer des produits pharmaceutiques suivi par des études in-vivo et cliniques

Références bibliographiques

1. Abderrazak M. et Joël R. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
2. Ali,M; Bhutani, KK and Atal, CK. Chemical Constituents of Banana. Journal of. Scientific & Industrial Research 1984, 43: 316-323. 97.
3. Bakry F. Choice of material used to isolate protoplasts in the banana-tree (Musa spp.), Musaceae. (1984). Vol. 39, no7-8, pp. 449-452
4. Bakry F. et al., (1997). Les bananiers. In : Charrier A., Hamon S., Jacquot M. & Nicolas D., eds. L'amélioration des plantes tropicales. Montpellier, France : CIRAD/ORSTOM, 109-139.
5. Beil, W., Birkholz, C., Sewing, K.-Fr., (1995). Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and Helicobacter pylori growth. Drug Research 45, 697–700.
6. Beil, W., Birkholz, C., Sewing, K.-Fr., (1995). Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and Helicobacter pylori growth. Drug Research 45, 697–700.
7. Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
8. Bonnier G, (1986). Plantes médicinales, plantes mellifères, plantes utiles et nuisibles. Editions Lavoisier.
9. Bounakline. A., (2015). Electronique de zinc sur des ecorces de banane activé chimiquement.
10. Bruneton J (1999). Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales, Ed, Tec et Doc, ParisMarcheix JJ ; Fleuriet A ; Jay- Allemand C (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques. 84-86.
11. Bruneton J. (1993) Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 2ème édition, lavoisier TEC et DOC.Paris. 915p.
12. Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.).Lavoisier Techniques & Documentation. Paris, 369-388.
13. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
14. Champion, J. (1967). Les bananiers et leur culture.1. Botanique et génétique. IFAC, SETCO ed. Paris, 214 pp.
15. Cheesman EE (1947). Classification of the bananas.Bulletin of miscellaneous information, N°2. Chen C. R. et Ramaswamy H. S. (2002) Color and Texture Change Kinetics in Ripening Bananas. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 35, 415–419.
16. Cirad (2001). Les usages multiples du bananier, Fiche technique.
17. Cirad, Gret (2006). Mémento de l'agronome. Ministère français de la Coopération, Paris, p. 960-974.

Références bibliographiques

18. Cirad-Flhor, 2003. Bananes for ever. La diversité génétique des bananiers. Fruitrop, 99, 5.
19. Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
20. Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
21. Daniells J.W. et al., (2001). Musalogue: a catalogue of Musa germplasm. Diversity in the genusMusa. Montpellier, France : INIBAP.
22. Delvaux B. (1995). Soils. In Bananas and Plantains (éd. GOWEN S.). Chapman and Hall, London, Ch.9, 230-257.
23. Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life. Sci. 65 (4): 337-53.
24. Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life. Sci. 65 (4): 337-53.
25. DIVEKAR VARSHA B ,KALASKAR MOHAN G ,CHOUGULE POONAM D ,REDASANI VIVEK Kand BAHETI D(2010) Isolation and characterization of mucilage from *Lepiduum Sativum* Linn Seeds ,International journal of pharma Reseach et Development .Online (IJPRD),09974.9446.
26. Divekar varsha b ,kalaskar mohan g ,chougule poonam d ,redasani vivek kand baheti D(2010) Isolation and characterization of mucilage from *Lepiduum Sativum* Linn Seeds,International journal of pharma Reseach et Development .Online (IJPRD),09974.9446.
27. Elghozi J.L., Duval D. (1992). Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.
28. FAO (1991). Racines, tubercules, plantains et bananas dans la nutrition humaine. Collection FAO Nutrition 24.
29. Fatoumata.K. (2012). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Musa.Acuminata* L.,De *MANGIFIRA INDICAL* ., DE *BOERHAVIA ERECTAL*. ET DE *ECLIPTA PROSTRATA* L. MALI, P80.
30. Gowen S. (1995). Bananas and Plantains. Chapman andHall, London, pp. 612.
31. HadiNezhad, M., Duc, C., Han, N. F., & Hosseinian, F. (2013).Flaxseed soluble dietary fibre enhances lactic acid bacterial survival and growth in kefir and possesses high antioxidant capacity. Journal of Food Research, 2(5), 152.
32. Häkkinen M., 2009. *Musa chunii*Häkkinen, a new species (Musacea) from Yunnan, China and taxonomic identity of *Musa rubra*. J. Syst. Evol., 47, 87-91.
33. Happi Emaga, T., Herinavalona Andrianaivo, R., Wathelet, B., Tchango Tchango, J., & Paquot, M. (2007). Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. Food Chemistry, 103(2), 590- 600.
34. Hayouni, E .A.,Abedrabba, M . ,Bouix, M . (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of

- Tunisian *Quercuscoccifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem*; 10 : 10 – 16
35. Heslop-Harrison J.S. & Schwarzacher T., (2007). Domestication, genomics and the future for banana. *Annals of Botany*, 100: 1073-1084.
36. Huang Guangrong., Jiang Jiabin.,and Dai Dehui. (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.*7 (9): 1335-1338.
37. Jones D.R., (2000). Diseases of banana, abaca and enset. Wallingford, UK: Cabi Publishing.
38. Jullien A, Chillet M & Malezieux E, (2008). Pre-harvest growth and development, measured as accumulated degree days, determine the post-harvest green life of banana fruit. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 83, 506- 512.
39. Kasongo, K., (2005). Etude du taux des multiplications rapides Ex situ chez 3 cultivars acuminatadiploïde, triploïde, tétraploïde de bananier après décapitation et utilisation de 6 benzylaminopyrine (BAP) à Kisangani, Mémoire, Faculté des sciences, UNIKIS. 39p.
40. Kelly E Heim, Anthony R Tagliaferro, Dennis J Bobilya (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure- activity relationships. *The journal of nutritional biochemistry*, Vol 13, Issue 10, 572- 584.
41. King A., and Young G. (1999). characteristics and occurrence of phenol*phytochemicals.*Jof the American dietetic association.*99:213-218. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
42. Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and Vladimir-Knez EICS. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm.* 54: 65-72.
43. Lassoudière A., (2007). Le bananier et sa culture. Versailles, France : Éditions Quæ.
44. Lescot T., (1998). Les bananiers : une diversité méconnue. *Fruitrop*, 51, 8.
45. Lii C.Y, Chang S.M; Y.L Young. Investigation of the Physical and Chemical Properties of Banana Starches. (1982). *Journal of Food Science*; Vol 47, Issue 5, pages 1493 – 1497.
46. Lugasi A., Hovari J., SagiK., and Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.*J.Acta.biologica. szegediensis.* 47 (1-4):119-125.(Cited in Mohammedi Z, 2005).
47. Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation.Lavoisier .Paris. 211p.
48. Mbida Mindzie, Christophe ; Doutrelepont, Hughes ; Vrydaghs, Luc ; Swennen, Rony ; Swennen, Rudy ; Beeckman, H ; De Langhe, Edmond ; De Maret, P. (2001). First archeological evidence of banana cultivation in central Africa during the third millenium before present .*Vegetation History and Archaeobotany* vol :10 pages:1-6.
49. MOUSSARD CHRISTIAN (2007) *Biochimie structural et métabolique* ,3éd, Bruxelles,77p.

Références bibliographiques

50. Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., & Ignacimuthu, S. (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and ethnomedicine*, 2(1), 43
51. NF V05-101, 1974. Produits dérivés de fruits et légumes. Détermination de l'acidité titrable
52. Nguyen T, Ketsa S, van Doorn W. Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biol Technol* 2003;30:187–93.
53. Nogueira, J. M. F., Fernandes, P. J. P., & Nascimento, A. M. D. (2003). Composition of volatiles of banana cultivars from Madeira island. *Phytochemical Analysis*, 14(2), 82–90.
54. Omoaka P.O., 2000. Postharvest physiology, ripening and quality evaluation in banana (*Musa* sp.) fruits. Doctoraatsproefschrift. Katholieke Universiteit Leuven. Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Departement Toegepaste Plantwetenschappen. N°445.
55. Padam BS, Tin HS, Chye FY, Abdullah MI. Banana by-products: an under-utilized renewable food biomass with great potential. *J Food Sci Technol* 2014;51:3527–45.
56. Pereira A, Maraschin M. Banana (*Musa* spp) from peel to pulp: ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health. *J Ethnopharmacol* 2015;160:149–63.
57. Perrier X., De Langhe E., Donohue M., Lentfer C., Vrydaghs L., Bakry F., Carreel F., Hippolyte I., Horry J-P., Jenny C., Lebot V. , Risterucci A-M., Omekpe K., Doutrelepont H., Ball T., Manwaring J., de Maret P. and Denham T. (2011). Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp) domestication. *PNAS*.
58. Persley et Pamela George, *Banana Improvement : Research Challenge and Opportunity*, Washington, D.C., Publications de la Banque mondiale, 1996, « Portfolio of Projects », p. 29.
59. Rios, J. L., Recio, M.C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 100 : 80-84
60. Robinson J.C.(1996). *Bananas and Plantains* CAB International, Wallingford. U.K. pp.238.
61. Rufyikiri G., Dufey, J., Nootens D. & Delvaux B. (2000) Effect of aluminium on bananas (*Musa* spp.) cultivated in acid solutions. I . Plant growth and chemical composition. *Fruits*, 55 (6): 367-379.
62. Simmonds N.W. & Shepherd K., (1955). Taxonomy and origins of cultivated bananas. *J. Linn. Soc. Bot.*, 55, 302- 312.
63. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.
64. Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother*. 56: 200-207.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Références bibliographiques

65. Tchango, J et Ngalani J. (1998). Transformation et utilisation alimentaire de la banane plantain en Afrique Centrale et Occidentale, In : Bananas and Food Security, 361-365.
66. Tezenas Du Montcel, H. (1985). Evaluation des collections d'Asie du Sud-Est (Thaïlande, Malaisie, Indonésie). CIRAD/IRFA. Rapport de mission 30/3-24/4.
67. Vercautere J. (2012) Formules et illustration du cours de pharmacognosie, éd UMN, pp40-41. WIDMER FRANCOIS, ROLAND BEFFA (2000) Aide mémoire de biochimie et biologie moléculaire 2^{éd} Edition médicales internationales, condres, Paris -new York .200p.
68. Voet D. Voet J G. (2005) Biochimie, 2^{éd}, Bruxelles, pp 362-363.
69. Wong C. et al., (2002). Assessment of validity of the sections in Musa (Musaceae) using AFLP. Ann. Bot., 90, 231-238.

Annexe 1





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

Appareillages, verrerie de laboratoire	Solvants	Milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> - cuves - Rotavapeur(STUART) - Spectrophotomètre visible (EV 9200) -Agitateurs magnétiques, -Bain-marie, -Balance de précision 0,001g (KERN 770), -Etuve(MEMMERT), -Four à moufle(NABERTHERM) -Ph -mètre (INOLAB), -Plaque chauffante (RYP A), -Spectrophotomètre UV-visible (EV 9200), <p>Verrerie : Bêchers, Réfrigérateur, cuves, burettes, cristallisoirs, éprouvettes, fioles, pipettes gradées, Pipettes Pasteur, ampoules à décanter, flacons, entonnoirs, creusets en porcelaine, cristallisoirs, spatules, Mortier, passoire, pilon, verre de montre, papiers filtres, spatules, tamis (500µm), tubes à essai....ect)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dichlorométhane -Acétate de sodium -Acide chlorhydrique -Acide gallique -Acétone -Ammoniaque -Carbonate de sodium -Chloroforme -Chlorure ferrique -D'hydroxyde de potassium -Eau distillée -Ethanol -Ether d'éthylque -Heptane -Hydroxyde de potassium -Hydroxyde de sodium -Isobutanol -Méthanol -Propanol -Réactif de Dragendroff -Réactif de Folin-ciocalteu -Sulfate de sodiumanhydre 	<ul style="list-style-type: none"> -Gélose nutritive(GN) -Muller Hinton(MH) -Milieu PDA
Appareillages utilisés pour l'activité antimicrobienne	Matériel	Solutions
<ul style="list-style-type: none"> -Autoclave de paille (WEBECO) -Bain-marie (MEMMERT) Etuve bactériologique (MEMMERT) : - Etuve 37°C étuve 28°C Spectrophotomètre visible (MEDLINE) Réfrigérateur 	<p>Anse de platine, bec bunsen, boîtes Pétri, cuves, disques stériles (papier Wattman), écouvillons, embouts en plastiques stériles, micropipettes, pince, pipettes Pasteur, portoir pour tubes, tube à essai.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Eau distillée -Eau physiologique Stérile (9g/l) -Eau de javel

Annexe 2 : Résultats de screening phytochimiques

Anthocyanes(-)			
Alcaloïdes (-)			
Tanins (+++)			
Tanins galliques (+++)			
Flavonoïdes (+++)			
Quinones libres (-)			
Quinones combinées (-)			

ANNEXES

Glucosides (+++)	
Coumarines(+++)	
Sennosides (-)	
Saponines(-)	

Annexe 3 : Préparation de la gamme d'étalonnage des polyphénols

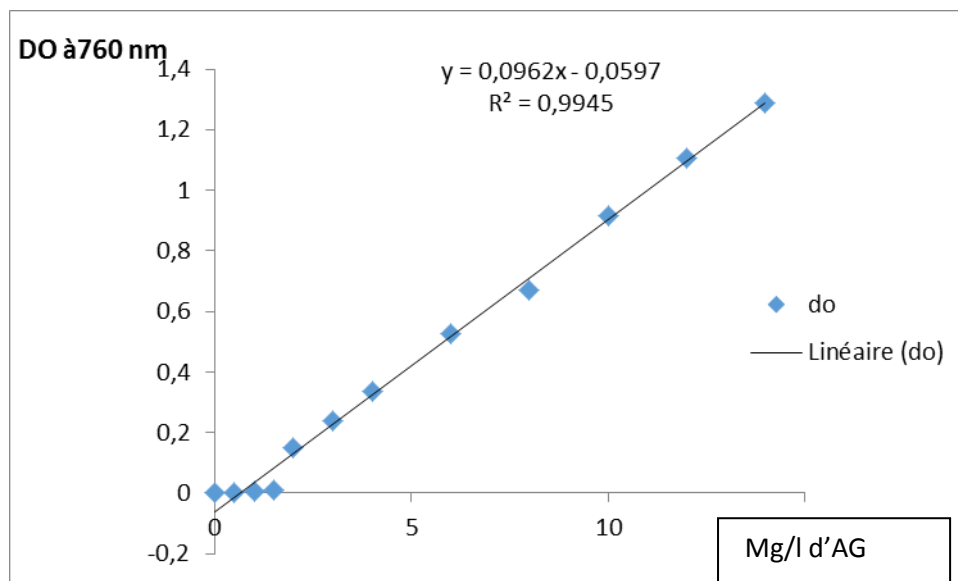
On fait dissoudre 200mg d'acide gallique dans 100ml d'éthanol, soit une solution mère (S1) ensuite, on réalise une série de dilution de cette solution comme suit :

1. On prélève 5ml de la solution mère puis on additionne 5ml de l'eau distillée et on obtient la dilution S1/2
2. On prélève 5ml de la solution précédente S1/2 puis on ajoute 5ml de l'eau distillée et on obtient la solution S1/4
3. On procède la même manière pour les autres dilutions
4. Ajouter à tous les tubes 0.5ml du réactif de Folin-Ciocalteu, et ce à l'abri de la lumière
5. Laisser agir 5min
6. Ajouter 0.5ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (20%)

ANNEXES

7. Incuber à l'abri de la lumière et à la température ambiante pendant 1 heure. L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc (sans acide gallique).

Tubes	blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	14
DO	0.001	0.0048	0.0096	0.15	0.24	0.336	0.528	0.67	0.914	1.106	1.29



Annexe 04 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Annexe 4 : Préparation de la gamme d'étalonnage des flavonoïdes

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

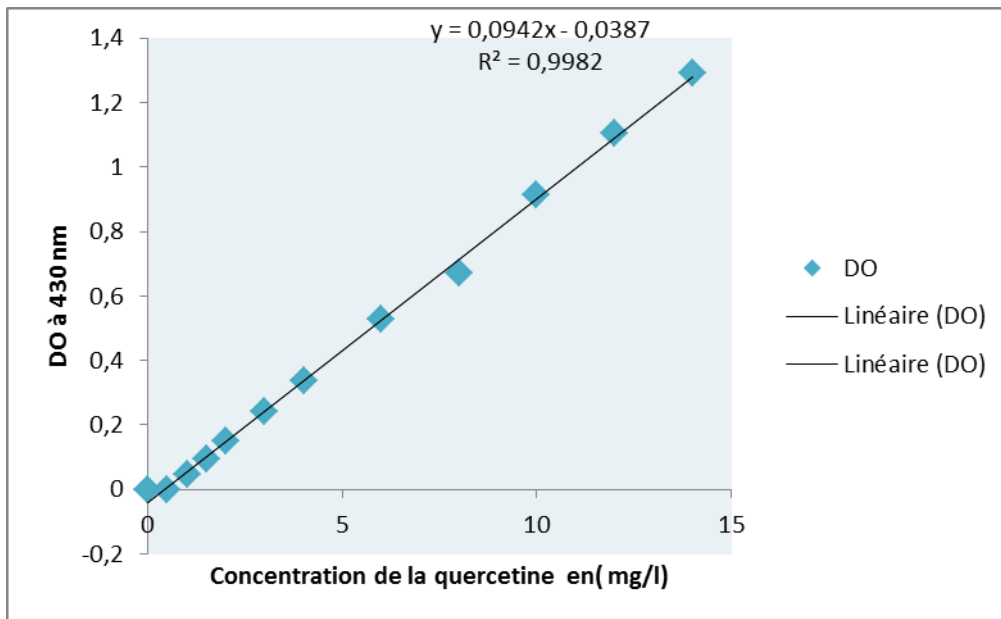


Figure N : Courbe d'étalonnage de flavonoïde (Quercétine)

Préparation des milieux de cultures utilisés lors des tests microbiologiques

1. Milieu Muller-Hinton

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller – Hinton préparé comme suit : Dissoudre 19g de la gélose Muller-Hinton dans 500ml d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

2. Milieu PDA

Faire bouillir 200g de pomme de terre dans 600ml d'eau pendant 20min, puis filtrer.

Ajouter au filtrat 20g d'agar et 15g de glucose puis ajuster avec de l'eau à 1000ml.

Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans des boîtes Pétri.

3. Eau physiologique

Dissoudre 9g de Na Cl dans 1000ml d'eau distillée. Bien agiter le mélange pendant 5 minutes jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C.

- Préparation des solutions

1. Acétate de Zinc

Préparé 3g de l'acétate de Zinc dans 10 ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

2. Bleu de méthylène

Préparé 0.1g dans 50ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

3. NaOH (10N)

Dissoudre 8g dans 20ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

4. H₂SO₄

Mélanger 5.5mlH₂SO₄ dans 1000ml d'eau distillée avec agitation jusqu'à dissolution complète.

5. Phénophtaléine à 1%

Dissoudre 0.5g de phénophtaléine dans 50 ml d'éthanol.

6. HCL (2N)

Préparé 20ml de HCL à 32% dans 100ml d'eau distillée.

7. Solution méthanolique (2 N)

Dissoudre 11,2 g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml de méthanol.

Annexe 6 : les résultats de la granulométrie

Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %	Size (µm)	Curr In %	Diff %
0,010	0,00	0,00	0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,256	1,05	1,05	1096,478	0,00	0,00
0,011	0,00	0,00	0,209	0,00	0,00	3,802	0,00	0,00	69,183	0,97	0,97	1258,925	0,00	0,00
0,013	0,00	0,00	0,240	0,00	0,00	4,365	0,03	0,03	79,433	0,89	0,89	1445,440	0,00	0,00
0,015	0,00	0,00	0,275	0,00	0,00	5,012	0,10	0,10	91,201	0,91	0,91	1659,587	0,00	0,00
0,017	0,00	0,00	0,316	0,00	0,00	5,754	0,15	0,15	104,713	1,14	1,14	1905,461	0,00	0,00
0,020	0,00	0,00	0,363	0,00	0,00	6,607	0,20	0,20	120,226	1,68	1,68	2187,762	0,00	0,00
0,023	0,00	0,00	0,417	0,00	0,00	7,586	0,26	0,26	138,038	2,66	2,66	2511,886	0,00	0,00
0,026	0,00	0,00	0,479	0,00	0,00	8,710	0,32	0,32	158,489	4,06	4,06	2884,032	0,00	0,00
0,030	0,00	0,00	0,550	0,00	0,00	10,000	0,37	0,37	181,970	5,85	5,85	3311,311	0,00	0,00
0,035	0,00	0,00	0,631	0,00	0,00	11,482	0,41	0,41	208,930	7,76	7,76	3801,894	0,00	0,00
0,040	0,00	0,00	0,724	0,00	0,00	13,183	0,44	0,44	239,883	9,54	9,54	4365,158	0,00	0,00
0,046	0,00	0,00	0,832	0,00	0,00	15,136	0,47	0,47	275,423	10,79	10,79	5011,872	0,00	0,00
0,052	0,00	0,00	0,955	0,00	0,00	17,378	0,49	0,49	316,228	11,22	11,22	5754,399	0,00	0,00
0,060	0,00	0,00	1,086	0,00	0,00	19,953	0,51	0,51	363,078	10,61	10,61	6606,934	0,00	0,00
0,069	0,00	0,00	1,239	0,00	0,00	22,909	0,56	0,56	416,889	9,05	9,05	7585,776	0,00	0,00
0,079	0,00	0,00	1,415	0,00	0,00	26,303	0,63	0,63	478,630	6,68	6,68	8709,636	0,00	0,00
0,091	0,00	0,00	1,620	0,00	0,00	30,200	0,72	0,72	549,541	4,32	4,32	10000,000		
0,105	0,00	0,00	1,855	0,00	0,00	34,674	0,84	0,84	630,957	1,24	1,24			
0,120	0,00	0,00	2,128	0,00	0,00	39,811	0,95	0,95	724,436	0,00	0,00			
0,138	0,00	0,00	2,512	0,00	0,00	45,709	1,04	1,04	831,764	0,00	0,00			
0,158	0,00	0,00	2,884	0,00	0,00	52,481	1,08	1,08	954,893	0,00	0,00			
0,182	0,00	0,00	3,311	0,00	0,00	60,255			1096,478	0,00	0,00			

Annexe 7 : conditions de la chromatographie phase gazeuse

Conditions Chromatographiques pour les esters méthyliques des huiles	
Chromatographe	Chrompack CP 9002
Détecteur	FID (250C°)
Injecteur	SPLIT 1/100 (250C°)
Gaz vecteur	Azote
Colonne Capillaire	Cp Sil 8 CB(5%Phenyl+ 95%dimethylpolysiloxane)
Longueur	30 m
Diamètre intérieur	0,32 mm *0.25 UM
Epaisseur	0,25 µm
Injecteur	250°C
Détecteur	280°C
Four	150 C°----- 200 C° (4C°/mn)
Quantité injectée	0.8µl
Vitesse du papier	0.5 cm/ mn

Annexe 8 : Composition des solutions et des milieux de culture utilisés✓ **Eau physiologique stérile**

Composition en g/l :

Chlorure de sodium (NaCl) 9g

Eau distillée 1000ml

pH=7

Stérilisation à 120°C/15min.

✓ **Gélose nutritive (GN)**

Composition en g/l

Peptone 10g

Extrait de viande 3g

Extrait de levure 3g

Chlorure de sodium 5g

Agar 18g

pH = 7,2±0,2

Stérilisation à 120°C/15 min

✓ **Gélose Müller Hinton (MH)**

Composition en g/l :

Extrait de viande 3g

Hydrolysat acide de caséine 17,5g

Agar 18g

pH=7,4

Stérilisation à 120°C/15 min.

✓ **Potato Dextrose Agar (PDA)**

Composition en g/ml

Pomme de terre.....200g

Dextrose.....15g

Agar.....20g

Eau distillée.....1000ml

Stérilisation à 120°C/15 min.

