



**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 de cycle**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biologie**

**Spécialité : Biotechnologie microbienne**

***Thème***

**Propriétés Biochimiques et Biologiques du  
fruit *Diospyros kaki*(*Plaquemine*)**

**Travail réalisé par :**

M<sup>elle</sup> : BENFDILA Thinhinane

M<sup>me</sup> : INGRACHEN Nacera

**Proposé et dirigé par :**

M<sup>me</sup> BENAHMED DJILALI Adiba

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

**Devant le jury :**

Président : M<sup>r</sup> SADOUDI Rabah

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

Examinatrice : M<sup>me</sup> BENZAOUZ kinza

Maitre Assistante (A) à l'U.M.M.T.O

**Année : 2017/2018**



## Remerciements

En premier lieu, nous rendons grâce à la bonté infinie du bon Dieu de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour mener à bien ce modeste travail.

Ce mémoire est le résultat d'un effort constat. Cet effort n'aurait pu aboutir sans la contribution de nombreuses personnes. Ainsi se présente l'occasion de les remercier.

Nous nous sentirions coupables d'ingratitude si nous ne remercions pas nos parents pour appui sans réserves, l'aide et l'impulsion qu'ils nous ont apportés. Nous espérons qu'ils trouveront dans ce travail toute notre reconnaissance et tout notre amour.

Nous tenons à remercier infiniment notre promotrice ; M<sup>lle</sup> BENAHMED DJILALI Adiba, laquelle nous a confié ce projet et nous a encadré durant cette année. Ses précieux conseils et la confiance qu'elle nous a témoignée auront été très utiles et appréciables.

Nous n'omettrons pas d'exprimer notre gratitude à l'ensemble de nos enseignants au sein du département de Biologie, ainsi qu'à toute l'équipe de laboratoire et la bibliothèque pour leur disponibilité à notre égard.

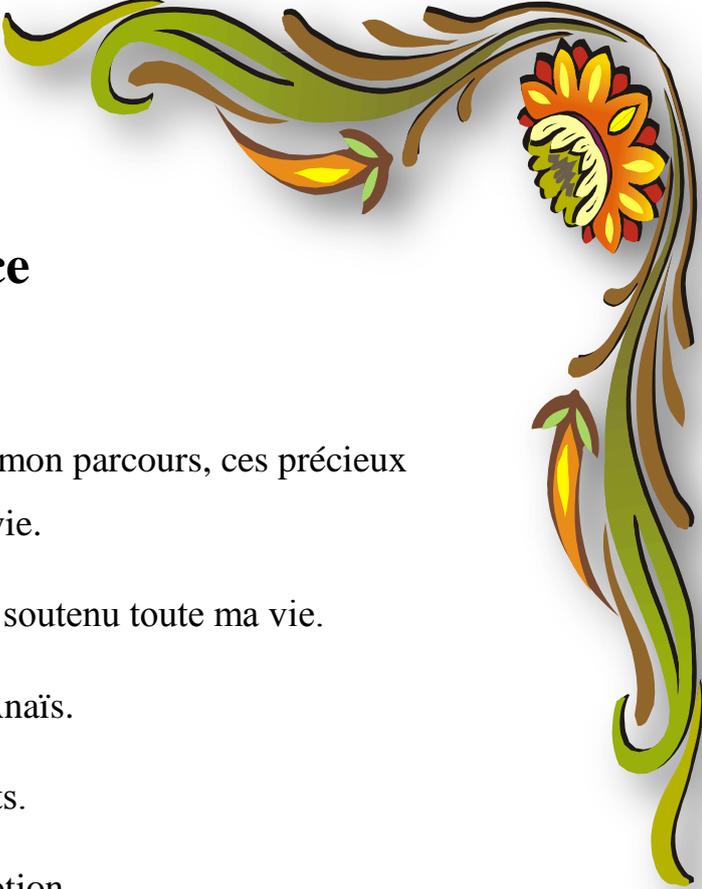
Nous remercions également les membres de jury de ce mémoire, pour accepter d'y participer, d'y contribuer à améliorer cette réflexion et stimuler celle à venir.

Nous remercions également Mr BELMOUNAH directeur de l'unité de recherche à Boumerdès.

Qu'il nous soit permis ici d'adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui par leur présence ou leur soutien, leur apport, leur aide de près ou loin ont participé à l'élaboration de ce présent travail.

**Grand merci à tous !**





## **Dédicace**

A mon très cher mari pour son soutien le long de mon parcours, ces précieux conseils, son assistance et présence dans ma vie.

A ma très chère adorable maman qui m'avais soutenu toute ma vie.

A mes deux adorables petites filles Amel et Anaïs.

A tous mes frères et mes sœurs et leurs enfants.

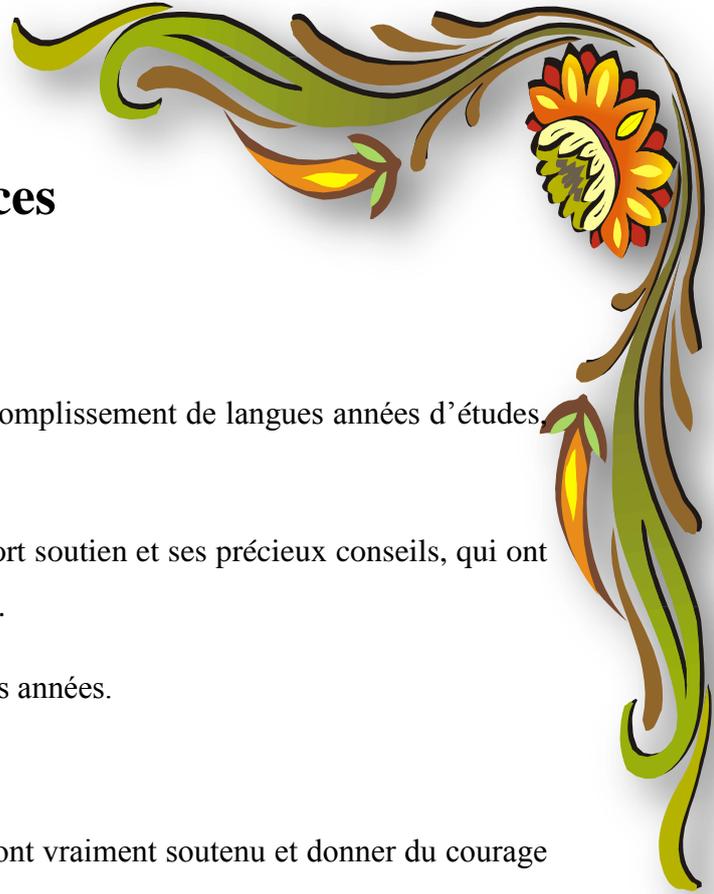
A tous mes amies et mes camarades de promotion.

A ma sœur dalila et ses deux fils kamel et karim et Achour, mon très chère frère Omer.



**Nacera**

## **Dédicaces**



*Je dédie ce modeste travail qui est le résultat d'accomplissement de longues années d'études, en premier lieu :*

*A ma très chère mère, pour son grand amour, son fort soutien et ses précieux conseils, qui ont éclairé le chemin de ma réussite. Que dieu la protège.*

*A mon père qui m'as vraiment aidé durant toutes ces années.*

*A mon très chère frère Samir.*

*A mon très chères sœurs Souhila et Hakima qui m'ont vraiment soutenu et donner du courage durant mon cursus.*

*A mon adorable petite sœur Lydia que j'aime beaucoup.*

*A toute ma famille sans particulier, et à tout mes amies qui me connais.*

*A toutes les personnes qui mon soutenu de près ou de loin durant mes année d'études.*

**Thinhinane**



# Liste des abréviations

**ATCC** : Américan Type Culture Collection.

**Cd** : Cadmium.

**CH<sub>3</sub>COONa** : Acétate de sodium.

**Cr** : chrome.

**D.kaki** : *Diospyros kaki*.

**DO** : Densité optique.

**EAG** : Equivalent d'acide gras.

**EQ** : Equivalent en quercitine.

**ET** : Ecart-type.

**H %**: Humidité.

**MF** : matière fraîche.

**MH** : Muller Hinton.

**MO** : Matière organique.

**N** : Normalité.

**PDA** : Potato Dextrose Agar.

**pH** : potentielle d'hydrogène.

**PPT** : polyphénol totaux.

**UV** : ultra-violet.

# Glossaire

**Aglycone** : est une partie non glucidique entrant dans la composition d'un hétéroside.

**Alcoïdes** : substance d'origine végétale toxique, biochimiques directes ou indirectes positives ou négatives, d'une plante sur une autre (micro-organismes inclus) au moyen le plus souvent de métabolite secondaire.

**Anthocyane** : pigment naturels pouvant aller du bleu vers le rouge sont présent dans les feuilles, pétales, fruits, connues pour leur effet antioxydants.

**Chalcone** : est un composé aromatique naturellement synthétisé par de nombreuses plantes.

**Quercétine** : un flavonoïde de type flavonol présent chez les plantes comme métabolite secondaire.

**Isoflavones** : une sous-famille des flavonoïdes très étudiée pour leurs propriétés pseudo-œstrogéniques. Ce sont les isomères de flavones.

**Astringence** : provient de la propriété qu'ont les protéines à se complexer sous l'effet des tanins : c'est le tannage des protéines. L'amylase salivaire est une protéine qui réagit fortement avec les composés astringents et provoque cette sensation d'assèchement dans la bouche.

**Fruit climactérique** : est celui qui continue à mûrir après sa récolte (grâce entre autre à l'éthylène qu'il contient).

**Fruits non-climactériques** : mûrissent uniquement sur leur arbre ou plan... Une fois récoltés, il faut donc les consommer au plus vite, car chaque jour, après récolte, ils ne font que se détériorer.

# Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Arbre, fleur et fruit de <i>Diospyros kaki</i> .L.	4
2	Structure de quelques xanthophylles et carotènes.	12
3	Spectre d'absorption UV- visible du lycopène (-) du $\gamma$ -carotène, du carotène (-,-), et de l' $\alpha$ -carotène (-) dans l'éther de pétrole.	14
4	Processus de dégradation des caroténoïdes.	15
5	Etapés suivies pour la transformation de fruit en poudre.	20
6	Filtration des extraits aqueux et éthanolique de fruit <i>Diospyros kaki</i> L.	30
7	Diagramme de dosage des polyphénols totaux.	30
8	Extrait des flavonoïdes (Extrait éthanolique, Extrait aqueux) <i>Diospyros kaki</i> L	31
9	Etapés de dosage des flavonoïdes répétition	31
10	Etapés d'extraction des tannins	32
11	Photo de Granulomètre Laser MASTERIZER 2000 version 4.0	33
12	Aspect des composés phénoliques issus de <i>Diospyros kaki</i> L.	34
13	Distribution granulaire de la poudre de fruit de <i>Diospyros kaki</i> L	41
14	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits éthanoliques de la matière fraîche et de la poudre de <i>Diospyros kaki</i> L. vis à vis <i>E coli</i> et <i>S aureus</i> .	43
15	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits éthanoliques de la matière fraîche et de la poudre de <i>Diospyros kaki</i> L. contre <i>C albicans</i> et <i>A niger</i> .	44

# Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
<b>I</b>	Composition en vitamine C et en minéraux de fruit de persimmons	5
<b>II</b>	Souche utilisée lors de l'activité microbienne.	19
<b>III</b>	Résultats de screening phytochimique de fruit de <i>Diospyros kaki</i> L.	36
<b>IV</b>	Résultats de quelques paramètres physico-chimiques de fruits <i>Diospyros kaki</i> L. (matière fraîche).	38
<b>V</b>	Composition minérale de fruit <i>Diospyros kaki</i> L.	39
<b>VI</b>	Résultats de dosage de PPT et des flavonoïdes des extraits de fruit <i>Diospyros kaki</i> L frais.	40
<b>VII</b>	Diamètres (mm) des zones d'inhibition (moyenne + ET) exprimés pour les extraits de la matière fraîche et de la poudre (n= 3 et n=2) vis-à-vis <i>E coli</i> et <i>S aureus</i> .	42
<b>VIII</b>	Diamètres (mm) des zones d'inhibition (moyenne + ET) exprimés pour les extraits de la matière fraîche et de la poudre (n= 3 et n=2) vis-à-vis <i>C albicans</i> et <i>Aniger</i> .	44

# Sommaire

**Résumé**

**Liste des abréviations**

**Glossaire**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction générale** ..... 1

## Synthèse bibliographique

### **Chapitre I : Généralité sur *Diospyros KAKI***

I.1.Histoire et origine du persimmon, *Diospyros kaki* L ..... 2

I.2.Propagation des persimmons à travers le monde ..... 3

I.3.Production mondiale ..... 4

I.4.Description botanique ..... 4

    I.4.1. Données générales ..... 5

    I.4.2.La classification botanique des persimmons ..... 5

I.5. Les différentes variétés de *Diospyros kaki* L ..... 6

I.6. Composition chimique et valeur nutritionnelle du fruit ..... 6

I.7.Conditions culturales ..... 6

    I.7.1. Exigences agroclimatiques ..... 6

    I.7.2. Récolte et conservation ..... 7

### **Chapitre II : Généralité sur les composés phénoliques**

II.1.Définition ..... 8

II.2.Biosynthèse des polyphénols ..... 8

    II.2.1.La voie de l'acide shikimique ..... 8

    II.2.2.La voie de l'acide mélanique ..... 9

II.3.Intérêt thérapeutique.....	9
II.3.1.Activité anticancéreuse .....	9
II.3.2.Prévention contre les maladies cardiovasculaires .....	9
II.3.3.Prévention contre les maladies hormona- dépendantes .....	10
II.3.4.Action gastro- protectrice de poly phénol .....	10
II.4.Généralités sur les tannins.....	10
II.4.1.Définition .....	10
II.4.2.Les types de tannins .....	11
II.4.2.1.Les tannins hydrolysables .....	11
II.4.2.2.Les tannins condensés .....	11
II.5.Généralités sur les caroténoïdes .....	12
II.5.1.Définition .....	12
II.5.2.Classification des caroténoïdes .....	13
II.5.3.Structure chimique .....	13
II.5.4.Propriétés physico- chimique des caroténoïdes .....	14
II.5.4.1.Solubilité des caroténoïdes .....	14
II.5.4.2.Absorption de la lumière UV- visible .....	14
II.5.5.Stabilité et réactivité des caroténoïdes .....	15
II.6. Généralités sur les flavonoïdes .....	16
II.6.1.Définition .....	16
II.6.2.Biosynthèse des flavonoïdes .....	17
II.6.3.Classification des flavonoïdes .....	17
II.6.3.1.Flavones et flavonols .....	17
II.6.3.2.Flavan-3-ols ; flavan-3,4-diols et anthocyanidols .....	17
II.6.3.3.Chalcones et aures .....	17
II.6.4.Intérêt thérapeutiques des flavonoïdes .....	18

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre III : Matériels et méthodes**

III.1. Cadre de l'étude.....	18
III.2. Appareillages et réactifs .....	19
III.3. Matériel biologique .....	19
III.3.1.Echantillonnage du fruit.....	19
III.3.2.Souches utilisées .....	19

III.4.Méthodes d'analyses .....	20
III.4.1.Obtention de la poudre du fruit analysé.....	20
III.5. Analyse photochimique de fruit .....	21
III.5.1. Préparation de l'infusé .....	21
III.6.Caractérisation physico-chimique de fuit .....	24
III.6.1. Détermination de la teneur en eau .....	24
III.6.2.Mesure de pH .....	25
III.6.3. Détermination de la teneur en cendres .....	25
III.6.4. Détermination des éléments minéraux .....	26
III.6.5. Détermination de l'acidité titrable .....	27
III.6.6. Dosage des sucres .....	28
III.6.7. Dosage de l'acide ascorbique .....	30
III.7.1.Dosage des polyphénols totaux .....	30
III.7.2.Dosage des flavonoïdes .....	32
III.8.Extraction des tanins .....	33
III.9. Analyse rhéologique des poudres .....	34
III.9.1.L'analyse de la granulométrie .....	34
III.10.L'Activité antimicrobienne .....	35

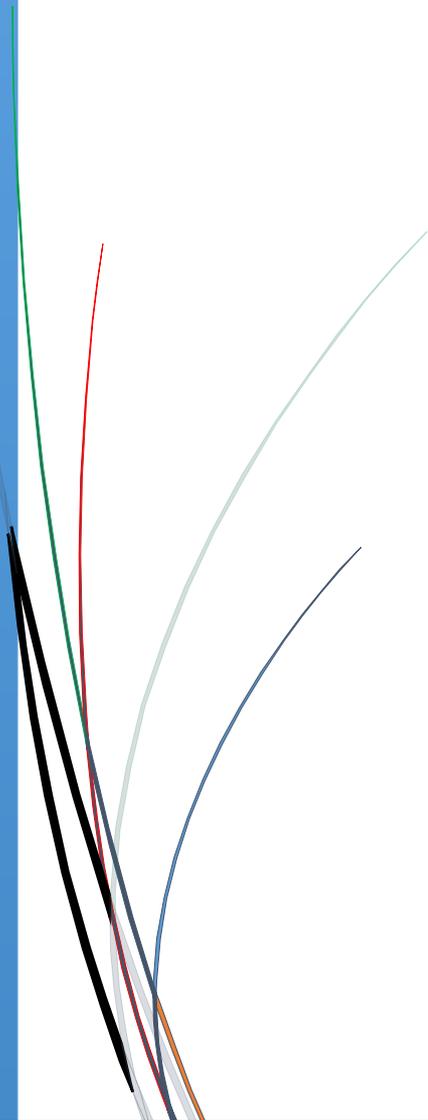
#### **Chapitre IV : Résultats et discussions**

IV.1. Résultat de l'analyse phytochimique .....	36
IV.2. Résultats de quelques Paramètres physico-chimique.....	37
IV.3. Composition minérale .....	39
IV.4.Analyse des composé phénolique .....	39
IV.4.1. Dosage des polyphénols .....	40
IV.4.2. Dosage des flavonoides .....	41
IV.5. Résultats de la granulométrie .....	41
IV.6. Résultats de l'activité antibactérienne .....	42
<b>Conclusion</b> .....	46

#### **Références bibliographiques**

#### **Annexe**

# **Introduction Générale**



## Introduction générale

---

Les fruits et les légumes constituent une composante importante de l'alimentation humaine et jouent un rôle primordial dans le maintien de la santé humaine. En effet, l'impact de consommation de ces produits sur la santé réside dans la richesse en composants bioactifs largement reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la physiologie humaine.

Les plantes sont capables de produire une grande diversité de produits, ne participent à leurs métabolisme de base, mais représentent plutôt des produits du métabolisme secondaire.

Les métabolites secondaires font et reste l'objet de nombreuses recherches *in vivo*, notamment la recherche des nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques les saponosides et les huiles essentielles.

Le kaki est un fruit fibreux tropical à feuilles caduques. Il représente une excellente source de vitamines (A et C). Egalement, il est riche en fibres alimentaires ayant un effet sur la digestion (Masood et *al.*, 2008).

Ce fruit a des propriétés importantes dans la prévention des facteurs de cancer ou il rend le corps plus résistant aux radicaux libres qui détruisent les cellules du corps. Il contient un grand nombre d'antioxydants protègent l'organisme contre les maladies en générale.

Il est à signaler, que en aucun cas aucune étude en Algérie n'a été faite sur ce fruit. Mais dans les autres pays tels-que la Chine la Corré, le Japon des études sur les autres variétés de kaki ont été réalisées (Manach et *al.*, 2004)

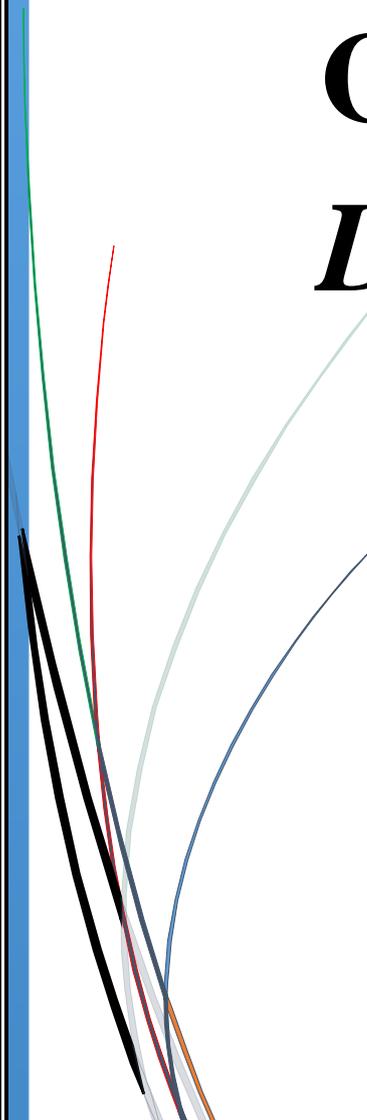
A cet effet, nous nous somme penchés sur l'étude de quelques propriétés physico-chimiques et biologiques et rhéologiques du fruit *Diospyros kaki* L.

Ce travail est subdivisé en trois parties :

La première partie comprend deux chapitres traitant respectivement des généralités sur le fruit *Diospyros kaki* L. 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 partié, rapporte les résultats obtenus suivis par une discussion finalisée par une conclusion générale.



**Chapitre I :**  
**Généralité sur**  
*Diospyros kaki*

### I.1.Histoire et origine

Depuis la période préhistorique, les persimmons, appelés aussi kaki (*Diospyros kaki* L.) ont été cultivés en Chine, au Japon et en Corée (Yamagishi et *al.*, 2005). L'espèce (*Diospyros kaki* L.) est la plus connue des espèces des persimmons. L'arbre qui les produit est appelé plaqueminier.

Il y a environ mille variétés de persimmons que l'on peut diviser en groupes selon leur couleur et leur astringence (Ito, 1980).

Au XVII<sup>ème</sup> siècle, les européens font la connaissance du *Diospyros kaki* L., grâce aux moines jésuites qui ont voyagé en Chine, notamment le moine Ricci, en 1613 (Evreinof, 1948).

Les persimmons furent ainsi introduits dans le bassin méditerranéen il y a plus d'un siècle (Telis et *al.*, 2000). Ces dernières années, la culture du plaqueminier, et donc la production de persimmon, s'est un peu développée aux Etats Unis d'Amérique et en France.

L'origine de mot diospyros, Linn vient de l'ancien nom grec employé par Théophraste, de dios = divin et de puros = blé signifiant littéralement nourriture céleste (Nicholson ; Mottet, 1893-1894). Le nom spécifique vient du mot anglais Khakee, emprunté à l'hindi kaki signifiant couleur de poussière (pruine blanchâtre sur la peau du fruit) (Montagnac, 1960).

### I.2.Répartition des persimmons à travers le monde

Les persimmons sont principalement cultivés en Chine, au Japon et en Corée. Le plaqueminier du Japon pousse naturellement dans le nord de la Chine. Sa culture date d'environ mille ans, s'étend sur les provinces du nord, le Shan-Hsi, le Shan-Tung, le Ho-Nan, le Chili (Evreinof, 1948).

La culture de cette espèce s'est largement étalée en dehors de la Chine et du Japon pour devenir l'une des principales ressources alimentaires à travers les pays de l'Asie.

Outre l'Asie, la culture de plaqueminier s'est développée en Californie, en Italie, au Brésil, en Nouvelle Zélande et en Australie. Elle a gagné une popularité dans les pays méditerranéens (Clark et Mac Fall, 2003).

Comme nous l'avons mentionné, l'introduction du *kaki* en Europe a été réalisée au début de XVII<sup>ème</sup> siècle. En France, la culture de ce fruit tropical a pris de l'importance à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle. En Italie, le kaki s'est répandu à partir de 1876. Il est apparu en 1888 en Russie. Notamment au Caucase est largement cultivé sur les bords des mers Noire, Caspienne, aussi qu'en Géorgie.

L'espèce *Diospyros kaki* L. s'est répandue aux Etats Unis à la fin du XIXème siècle, répartie dans les états du sud, en Californie, et en Floride. En 1927, on comptait ainsi 88000 arbres de *Diospyros kaki* L. (Evreinoff, 1948).

La production des persimmons en Australie a débuté en 1970 pour atteindre 200000 arbres en 1993 (Collins et Tisdell, 1995). La présence de ce fruit tropical en Algérie date de 1894 (Evreinoff, 1948).

Au Maroc, le kaki est connu depuis des décennies. Sa culture est réalisée dans les zones Khémisset-Meknès et la région de Rabat-Kenitra. La plantation est estimée à 10 hectares seulement. En Tunisie, les persimmons sont cultivés dans le nord, dans les zones de Nefza, Ain-Drahim, Jendouba et au cap bon. La production reste faible, aussi ce précieux fruit reste non connu chez le consommateur tunisien. Pourtant, la culture de ces arbres ne demande pas d'un suivi particulier. Malgré la richesse nutritionnelle de ces fruits, en fibres, polyphénols, caroténoïdes, protéines, les persimmons ne sont pas encore assez valorisés en Tunisie (Ito, 1980).

### I.3. Production mondiale

La production mondiale des persimmons est d'environ 1 200 000 tonnes annuellement sur une surface de 235 000 ha, avec une production d'environ 57 % et 27 % en Chine et en Japon respectivement. La production intensive des persimmons se développe en Italie (70 000 tonnes), en Corée (50 000 tonnes), en Brésil (45 000 tonnes), en Espagne (8000 tonnes), et aux Etat Unis (7000 tonnes) (Telis et *al.*, 2000).

### I.4. Description botanique

Gaston Bonnie, (1990) a pu classer les persimmons comme suit :

<b>Phylum</b>	<i>Accomycota</i>
<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Dilleniidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Ebanales</i>
<b>Famille</b>	<i>Ebenaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Diospyros</i>
<b>Espèce</b>	<i>Diospyros kaki</i> L.

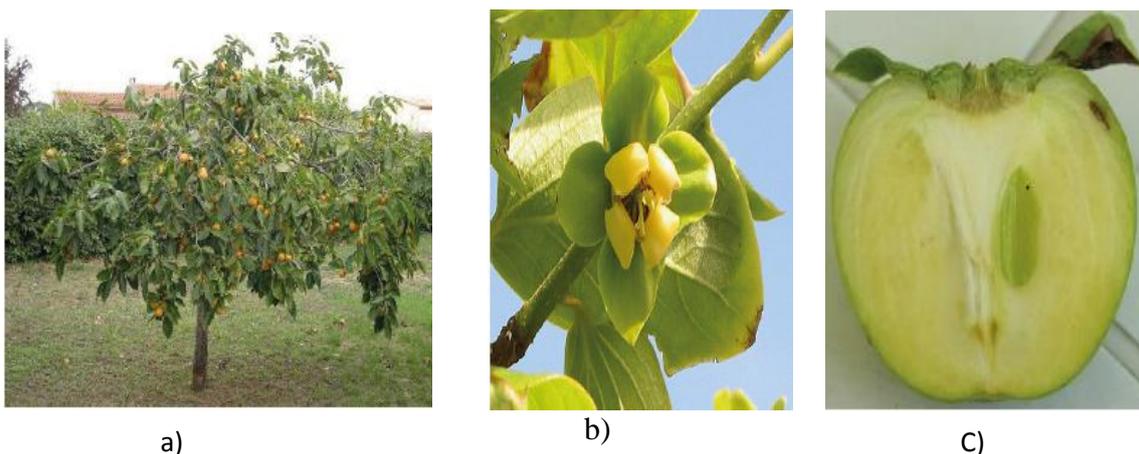
Le persimmon est un arbre (Figure 1, a) au port itaté d'environ 6 mètres de hauteur, qui possède des feuilles caduques ovales vert sombre, qui deviennent jaune à orange profond en automne, des fleurs de couleur crème (Figure 1, b), sont axillaires ou latérales, parfois sur l'écorce du tronc ou des rameaux (cauliflorie), solitaires, en cyme ou plus rarement en grappe, munies de bracrées, le plus souvent dioïques, rarement hermaphrodites ou polygames, dichlamydées, de 2 à 3 mètres de hauteur.

Généralement, les fruits sont bacciformes, coriaces ou charnus. Le fruit est une baie globuleuse orange à rouge tomate de diamètre d'environ 8 cm (Gastson Bonnier, 1990). Les persimmons sont de couleur orange, d'un goût doux et de texture charnue (Daood et *al.*, 1992) et présentent une pelure rouge-orange lustrée dure et une pulpe de couleur orange-jaune avec un goût sucré (Nicoletia et *al.*, 2005).

Ils possèdent 4 larges sépales qui restent attachés à la base. Les graines sont en nombre variable de 0 à 8 unités par fruit. Sa chair est à la fois tendre et ferme, juteuse et fondante, lorsque le fruit est bien mur ; la texture et la consistance ont tendance à devenir gélatineuse, ceci en fonction de stade de maturation (Blanchards et *al.*, 2001)

Les graines sont pendantes, albuminées, ornées à l'extérieur de 2 à 3 sillons longitudinaux, avec en testa lisse et mince (Perrier, 1952).

La coupe transversale du persimmon à maturité (Figure 1; c), montre de l'extérieur vers l'intérieur) la zone épidermique de couleur verte, la pulpe de couleur vert-jaune et la présence d'une partie pétale verdâtre (Nicoletia et *al.*, 2005).



**Figure 1** : arbre, fleur et fruit de de *Diospyros kaki* L. (Nicoletia et *al.*, 2005).

### I.5. Différentes variétés de persimmons

Les persimmons japonais (*Diospyros kaki* L.) sont souvent classés selon deux types, astringent et non astringent, dépendant du degré de l'astringence au stade de maturité (Asgar et al., 2003). Ces deux types sont caractérisés par leur coloration orange-rouge intense qui augmente durant la maturation (Clark et MacFall, 2003). Ce fruit caduc compte plus de 1000 variétés locales au Japon, en Chine et en Corée (Collins et Tisdell, 1995). Les plus connus sont : *Hiratanenashi*, *Tone-wase*, *Ishibashi-wase*, *Matsumoto-wase-Fuyu* et *Maekawa-Jiro* (Suzuki et al., 2005).

### I.6. Composition chimique et valeur nutritionnelle

Plusieurs composés bioactifs comme les polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes, stéroïdes, fibres, caroténoïdes et minéraux sont présents dans les pelures du persimmon (Yokozawa et al., 2007). En comparaison avec d'autres fruits très consommés comme les pommes, pêches, poires et oranges, les fruits de persimmon contiennent un taux de sucre élevée de l'ordre de 12,5 g/100 g de fruit frais, majoritairement du saccharose, du glucose et du fructose -(Del Bubba et al., 2009). Ces fruits présentent également, une teneur moyenne totale en polyphénols de 1,45 g/100 g de fruit frais ainsi que 1,48 g de fibre/100 g de fruit frais (Gorinstein et al., 1999).

La pulpe des fruits représente une source de vitamines (A et C), et de minéraux le plus majoritaires (calcium et fer) (Tableau I)

**Tableau I** : composition en vitamines et en minéraux des fruits de persimmon (Nicoletia et al., 2005).

Composés	Composition (g/kg)
Vitamine C	0,70
Vitamine A	0,65
Calcium	0,90
Fer	0,02

## I.7. Conditions culturelles

### I.7.1. Exigences agroclimatiques

Le plaqueminier ne présente aucune difficulté sur les caractéristiques du sol, mais s'adapte mieux au sol fertile et bien drainé, avec un pH de 5,5 à 6,5.

Durant la quiescence, il peut survivre jusqu'à -18°C. Il résiste aux vents et à la sécheresse, mais l'insuffisance de l'humidité du sol entraîne la diminution du rendement. (Nicoletia et al., 2005).

L'arbre en question pousse mal à basse altitude, mais il donne un bon rendement lorsqu'il est planté dans une zone comprise entre 600 et 1200 mètres d'altitude.

Les régions de la grande île qui lui sont spécifiquement adaptées sont les zones des hauts plateaux, telles que : Antsirabe, Ambositra, Antananarivo et sur les plateaux Ouest (Zuang, 1988).

### I.7.2. Récolte et conservation

La première mise à fruits se fait 5 ans après la plantation pour les plantes à semis. En cas de greffage, elle intervient au bout d'un an seulement.

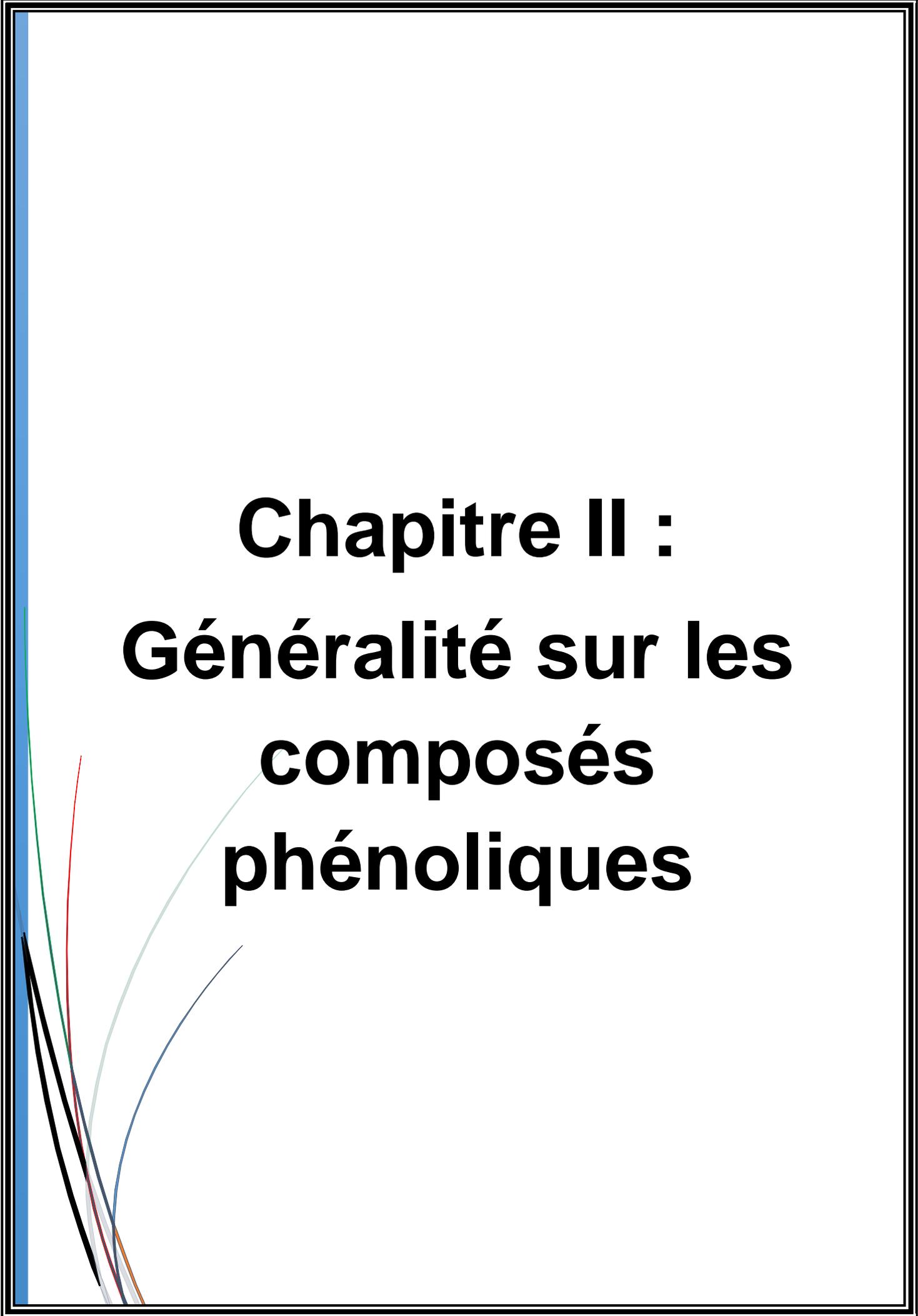
Une récolte a lieu pendant la saison hivernale, mais elle diffère encore d'une variété à une autre.

Chaque arbre adulte fournit en général 40 à 80 kg de fruits pouvant même aller jusqu'à 100 kg, soit un rendement moyen tonnes à l'hectare au moins. Une greffe de trois ans peut donner jusqu'à 400 kg par pied.

Les kakis greffés sont généralement non climactériques. Les fruits peuvent cependant murir sur pied mais risquent d'être attaqués par les ravageurs et pourrir, vu leur forte périssabilité. Ils doivent ainsi être récoltés avant maturité et transportés comme les tomates quand ils sont encore fermes. L'emballage doit être effectué en plateaux à un rang.

La maturation se poursuit pendant le stockage et est accélérée en intercalant avec des fruits à arôme intense tels que les grenadelles, les poires et les pommes (Zuang., 1988).

La conservation des deux types de fruit se fait dans des boîtes à la température ambiante. Au bout de 2 à 3 jours, sous l'action de l'éthylène dégagé par le murissement de la pomme, les kakis seront blets à point. Néanmoins, le stockage à basse température (-1 à +1°C) permet de conserver les fruits pendant 2 à 4 mois. Ces températures permettent mieux le murissement et le développement des arômes (Memento., 2002).



# **Chapitre II :**

# **Généralité sur les**

# **composés**

# **phénoliques**

### II.1.Définition

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

Généralement, ces molécules sont composées de substances chimiques aromatiques contenant ou moins un noyau aromatique, plusieurs groupes hydroxyles, et d'autres constituants (Bann, 2000). En outre, sont constituées de composés simples, comme les acides phénoliques et les composés hautement polymérisés.

Globalement, les composés phénoliques sont hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 daltons, comme les tannins (Hagerman et *al*, 1998, Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Ils participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant le rôle de signaux de reconnaissance entre les plantes, et les symbioses ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent d'une manière très efficace à la tolérance de végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel.

Ces premiers, prennent une importance croissante, notamment à cause de leur effet bénéfique sur la santé. En effet, leur rôle antioxydant naturel suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies d'inflammation, cardiovasculaire et neurodégénérative. Ils sont également utilisés comme additifs en industrie agro alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Macheix et *al*, 2005).

### II.2.Biosynthèse des polyphénols

La biosynthèse des polyphénols se fait selon deux voies principales qui sont :

#### II.2.1.Voie de l'acide shikimique

Dans cette voie l'érythrose 4- phosphate énoyl pyruvate sont produits par les hydrates de carbone, lors de leurs dégradation par la voie des pentose phosphate et la glycolyse respectivement ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6- C1 formant les tannins hydrolysables (Haslam 1994, Dewick, 1995).

### II.2.2 Voie de l'acide mélanique

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl co A donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes poly cétoniques obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-co A. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-co A carboxylase (Fleeger et Flipse 1964 ; Richter, 1993).

### II.3 Intérêts thérapeutiques des polyphénols

La principale caractéristique des polyphénols c'est qu'ils sont des agents antioxydants, très puissants (Pietta, 2002 ; Frei et Higdon, 2003 ; Oszmiaski *et al.*, 2007). En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants, comme le daflon produit à base de diosmine cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les radicaux bon- mauvais, comme l'oxyde nitrique qui favorise une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module de communication entre les cellules de ce dernier (Srivastava *et al.*, 2007).

En raison de ces vertus, les composés phénoliques sont largement utilisés dans les domaines thérapeutique et pharmaceutique, parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé nous signalons les activités suivantes :

#### II.3.1 Activité anticancéreuse

Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. Aux premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent bloquer les tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Des cellules impliquées, comme les hépatocytes synthétisent les enzymes dites de phase I (notamment des mono oxygénases telle que les cytochromes p-450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant les substrats des enzymes de phase II (glucosyl transférase, sur transférase).

Ces enzymes sont synthétisées sous l'action des substances polyphénoliques trouvées dans les légumes, et aussi sous l'action des isothiocyanates (Ames *et al.*, 1994 ; Jhonson 1999).

#### II.3.2 Prévention contre les maladies cardiovasculaires

La consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaires (Martin et Andriamtsito, 2002).

Au niveau des artères, les molécules préviennent l'oxydation de faible densité entraînant ainsi l'athérosclérose. En outre, les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui induit l'occlusion des artères (Yamanka, 1996).

### II.3.3 Prévention contre les maladies hormona- dépendantes

Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones ont une affinité remarquable pour les récepteurs d'œstrogènes et se sont de phytoœstrogènes. D'autres types de composés phénoliques tels que la quercitrine qu'on trouve dans les fruits et légumes possèdent également des propriétés pseudo- oestérogéniques inhibant la perte osseuse chez la rate avariectomisée mais de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'Homme (Gerber et Berta-Vanrullen, 2006).

### II.3.4 Action gastro- protectrice de polyphénols

Les polyphénols dont principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques comme l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide é gallique, sont capables de réduire la surface des lésions gastriques produites par l'indométacine chez les rates (Fumatotogawa et *al.*, 2004, Ruggiero et *al.*, 2006).

## II.4. Généralités sur les Tannins

### II. 4.1 Définition

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes les gymnospermes et dicotylédones (Komig et *al.*, 1994). Il ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines sous une autre forme selon les degrés d'affinité (Hagerman 1989, Dangles et *al.*, 1992).

Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes : le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 dalton (3000 pour les structures les plus complexe) (Dang Res et *al.*, 1992).

Dans notre alimentation l'astringence est la qualité organoleptique qui indique la présence des tannins. Ce critère organoleptique a un rôle important dans le choix des aliments (corrélation inverse entre teneur en tannins) (Horne et *al.*, 2002, Del Bubba et *al.*, 2009).

Comme les autres types de polyphénols, les tannins sont aussi répandus pour leurs nombreuses activités thérapeutiques notamment ; anti- infectieuse (Latte et Kolodziej, 2001,

Leitao et *al.*, 2005), cardiovasculaire (Yamanaka et *al.*, 1996, Cheruvanky, 2004), hormonodépendante et anticancéreuse (Notomo et *al.*, 2004 ; Gosse et *al.*, 2005).

#### II.4.2. Types de tannins

Selon la structure les tannins sont classés en deux groupes à savoir :

##### II.4.2.1. Tannins hydrolysables

Sont formés par la liaison de plusieurs acides galliques à un carbohydrate généralement le glucose. On parle de gallo tannins, aussi des unités de galloyl peuvent être ajoutées par liaisons esters, généralement en position C3 de l'acide gallique.

##### II.4.2.2. Tannins condensés

Ce sont des pro anthocyanidines, composés polyphénoliques hétérogènes ; dimères, oligomères ou polymères de flavones, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5-deoxy-3-flavanols et flavan-3, 4-diols (Sarni- manchado et Cheynier., 2006). Ces composés sont formés par condensation des molécules de flavonoïdes entre elles.

#### • Effet anti-nutritionnel de tannins condensés

L'effet antinutritionnel de tannins condensés se traduit de deux manières principales : leur capacité à inhiber les enzymes digestives et leurs liaisons aux molécules nutritives empêchant ainsi leur assimilation par le corps.

##### ➤ *Inhibition des enzymes digestives*

Les tannins condensés sont capables de se lier aux enzymes digestives causant de ce fait leur inhibition. En effet, plusieurs de ces polyphénols ont une action sur l' $\alpha$ -amylase (Kamadra et *al.*, 2004), l' $x$ -glucosidase, les protéases (Kocisko., 2004), la trypsine et les hémagglutinines (Gilani et *al.*, 2005 ; De Mejia., 2005).

L'inhibition de ces enzymes affecte l'activité du tube digestif et diminue la valeur nutritive des aliments ingérés qui ne pourront pas être assimilés.

##### ➤ *Non assimilation des aliments*

Les tannins condensés ont une grande capacité à se lier aux différents types de molécules présentes dans l'alimentation par des liaisons covalentes : polysaccharides (pectines, xyloglucon, amidon, cellulose), minéraux (fer, argent), vitamines....etc (Tervino et

*al.*, 1992 ; Gaffney *al.*, 2004). Mais, les principales molécules qui se lient à ces composés sont surtout les protéines (Zimmer et Cordesse, 1996).

Cette caractéristique a longtemps été étudiée en utilisant différents composés protéiques et glucidiques la BSA (Bovinsercem Albumin), le gluten, l' $\alpha$ -amylase et la  $\beta$ -galactosidase sont les principales protéines utilisées, et l'amidon ainsi que la pectine (Gedir et *al.*, 2005). En effet, les liaisons entre les tannins et les molécules qui s'y attachent dépendent de plusieurs facteurs liés au milieu, à la structure des molécules combinées, à la nature hydrophile ou hydrophobe et à la concentration des tannins impliqués (Timmer et Cordesse., 1996; Thang et *al.*, 2002).

Il a été démontré que la liaison des protéines aux tannins dans le rumen cause une diminution de la dégradation et de l'assimilation des protéines ce qui engendre une perte de la valeur nutritive des aliments et provoque une malnutrition.

A long terme, la grande teneur en tannins de l'alimentation cause chez les ruminants une perturbation de la micro flore du rumen et donc de son activité, une limitation de l'absorption et même une toxicité. De même, les effets antinutritionnels ont été observés aussi chez les rats, les poussins et le bétail. En effet, des travaux antérieurs ont montré qu'une alimentation à une teneur élevée en tannins condensés avait un effet négatif sur la digestibilité des protéines et les hydrates de carbone en réduisant la croissance, l'efficacité de l'alimentation, l'énergie métabolisable et la disponibilité biologique des acides (Gilani et *al.*, 2005).

## **II.5.Généralités sur les caroténoïdes**

### **II.5.1.Définition**

Les caroténoïdes regroupent les carotènes et les xanthophylles. Plus de 700 caroténoïdes ont été isolés et identifiés jusqu'à présent dans la nature. Ces molécules sont responsables des couleurs rouge et jaune, et orange de fruit, légumes et fleurs mais aussi des animaux les consommant, ils sont bio synthétisés par les plantes supérieures, les bactéries, dont les cyanobactéries, les algues, les champignons filamenteux et les levures. La majorité des caroténoïdes se trouve dans les tissus des plantes vertes photo synthétiques. Leur présence peut être un indicateur sur le stade de maturité, la pertinence, la photo protection et la sénescence (Grozier et *al.*, 2006).

Ces substances possèdent des propriétés spécifiques et remarquables (Britton et *al.*, 1995). Ils constituent la source de vitamine A. Parmi les 700 caroténoïdes actuellement

identifiés, environ 50 servent de précurseurs de la vitamine E7, en particulier l' $\alpha$ -carotène, la  $\beta$ -crypto xanthine et le  $\beta$ -carotène (Amarim- Carilho et *al.*, 2014).

L'omniprésence naturelle de ces pigments a fait des caroténoïdes additifs alimentaires les plus utilisés en tant que colorant et / ou antioxydants.

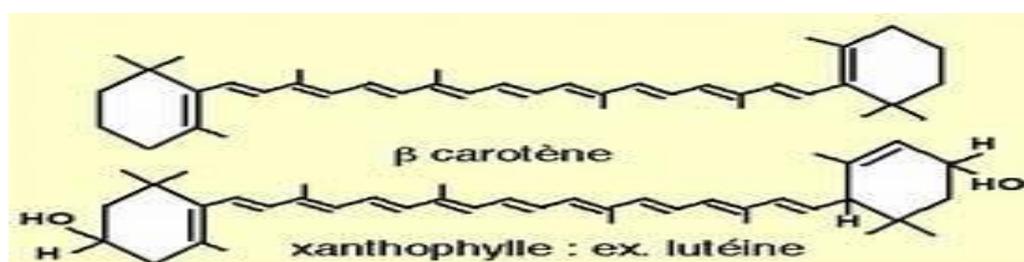
Les fruits et les légumes, et leurs produits de transformation, représentent la première source de caroténoïdes, puisqu'ils sont capables de les synthétiser de nouveau (Rodriguez et *al.*, 2006).

### II.5.2. Classification des caroténoïdes

On peut répertorier les caroténoïdes selon deux grandes classes : 1) les carotènes ou les caroténoïdes hydrocarbonés composés uniquement d'atomes de carbone et d'hydrogène ( $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -carotène, phytoène, lycopène, etc), 2) : les xanthophylles ou les caroténoïdes oxygénés, qui contiennent en plus de la chaîne carbonée des fonctions époxy, carbonyle, hydroxyle, méthoxy ou acide carboxylique (voilà xanthine, cunthaxanthine, téaxanthine, spirilloxanthine, to ruluthodine) (Rivera et Canella- Garayoa., 2012).

### II.5.3. Structure chimique

Les caroténoïdes appartiennent à la famille des tetraterpénoides. L'unité de base de la structure de ces pigments est l'ospréne, constitué de 8 unités isoprénique (C<sub>5</sub>) liées tête-à-queue, de façon renversée, ce qui donne à certains caroténoïdes une symétrie moléculaire. Généralement les caroténoïdes sont des C<sub>40</sub> tetra-terpénoides, mais il existe aussi des structure C<sub>30</sub> ou C<sub>50</sub> (Britton, 1995).



**Figure 2 :** Structure de quelques xanthophylles et carotènes (Rivera et Canela-Garayoa, 2012).

## II.5.4 Propriétés physico-chimiques

### II.5.4.1. Solubilité

Les caroténoïdes sont des molécules extrêmes hydrophobes qui présentent donc une faible solubilité dans l'eau. La polarité de ces molécules varie d'un pigment à un autre suivant le groupe fonctionnel lié aux extrémités de la chaîne polyène. Ceci influence leur interaction avec les membranes biologiques et diverses molécules (Domovok Valka, 2013). Ils peuvent s'associer à des protéines (Britton, 1995).

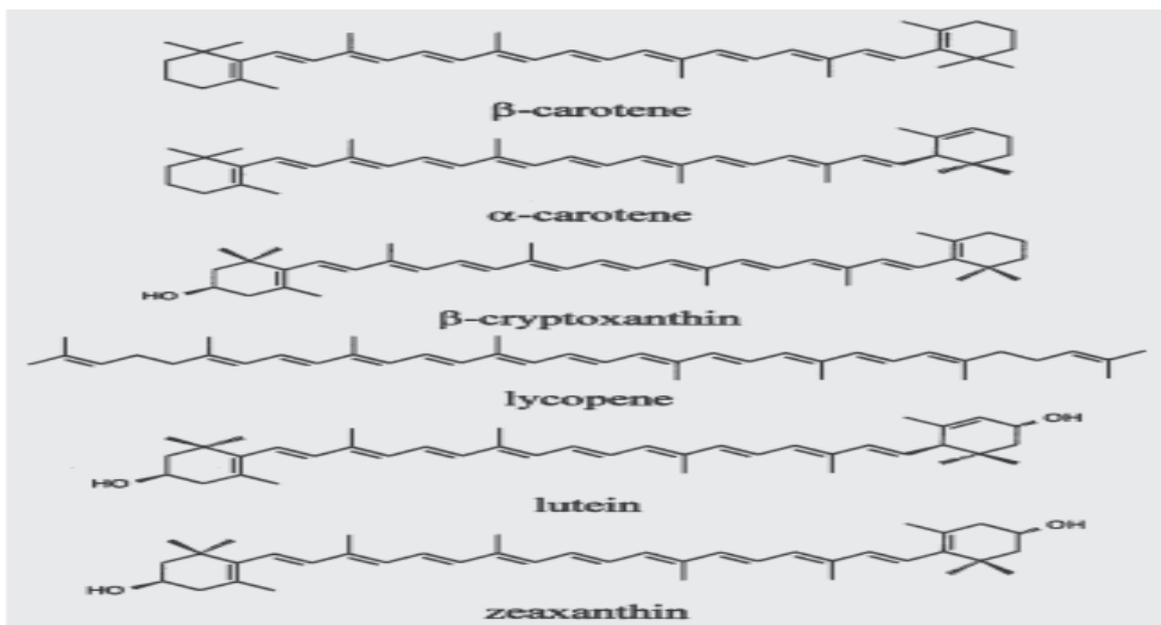
Généralement, ces premiers sont solubles dans les solvants organiques tel que l'acétone, l'éthanol, l'éther diéthylique, le chloroforme, et l'acétate d'éthyle. Par contre, ils sont apolaires, solubles dans l'hexane, le toluène et l'éther de pétrole.

En effet, la solubilité de ces substances est influencée par l'interaction avec d'autres molécules environnantes, comme les lipides, les protéines *in vivo*. Par ailleurs, ces substances sont localisées dans les membranes, leur interaction avec les protéines modifie leur polarité facilitant ainsi leur transport en milieu aqueux (Britton, 1995).

### II.5.4.2 Absorption de la lumière UV- visible

Le système conjugué de double liaisons des caroténoïdes constitue le chromophore qui absorbe la lumière UV-visible généralement entre 400 et 600 nm. De ce fait, la majorité des caroténoïdes ont un spectre d'absorption avec 3 maxima, en relation avec leur structure chimique. Notamment, le nombre élevé de doubles liaisons conjuguées explique l'absorption dans le vert (Melindez- Martinez et *al.*, 2007). Ainsi, le lycopène est un caroténoïde acyclique de couleur rouge avec 11 doubles liaisons conjuguées, présente des bandes d'absorption maximales à 444, 470 et 502 nm dans l'éther de pétrole (Figure 3).

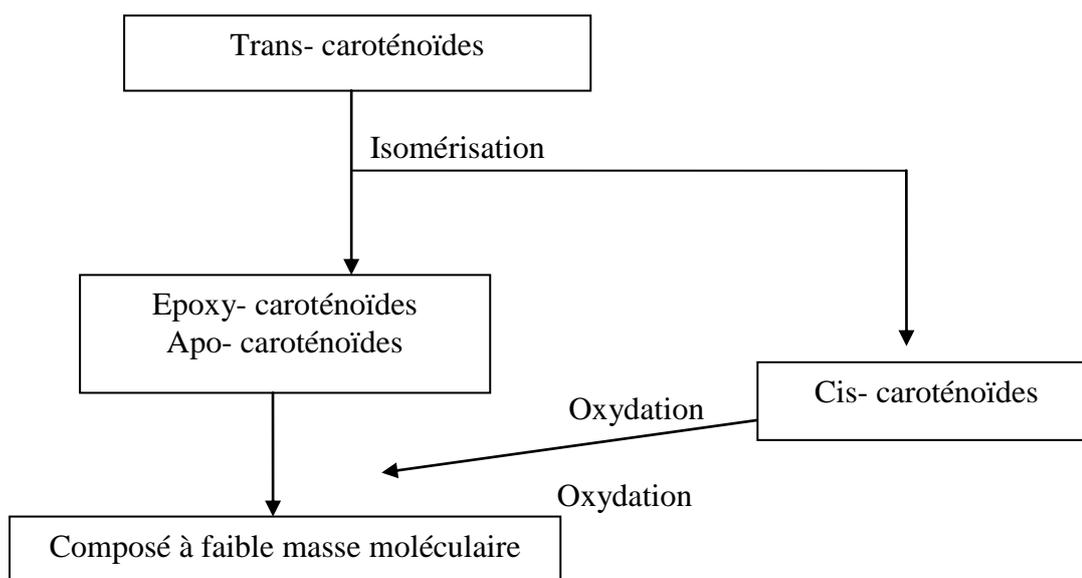
La cyclisation influence également la forme du spectre UV-Visible des caroténoïdes : le 13-carotène étant bi-cyclique avec 11 doubles liaisons conjuguées, il présente un effet hypsochrome par rapport au lycopène, du à la cyclisation (Rodriguez- Amaya & Kimura, 2004) (Figure 3).



**Figure 3** : spectre d'absorption UV-Visible du lycopène, du  $\alpha$  carotène (-), et du  $\beta$  carotène dans l'éther de pétrole (Rodriguez- Amaya, 2001).

### II.5.5 Stabilité et réactivité des caroténoïdes

Les caroténoïdes constituent la famille de molécules thermolabiles, sensibles à la température et à l'oxygène leurs structures chimiques insaturées les rendent peu stables et très réactives. Citant les travaux de Lemmens et *al.*, (2013), qui ont étudié de manière approfondie les cinétiques d'isomérisation du trans- $\beta$  carotène en forme ci-isomère dans de la purée de mangue soumise à des traitements combinés (haute pression-température). D'autres chercheurs ont aussi étudié la dégradation et l'isomérisation de  $\beta$ -carotène de carotte durant des traitements thermiques en présence de matière grasse (huile) (Knoc Kaert et *al.*, 2012). (Colle et *al.*, 2013), ont mené la même étude avec le lycopène. Ces premiers, ont confirmé que, la chaîne polyène des caroténoïdes est sujette à l'isomérisation des trans-caroténoïdes en cis-caroténoïdes. Leur oxydation dépend de la température, de l'exposition à la lumière, de la présence d'acide et de l'adsorption sur des surfaces actives facilitent l'isomérisation, la dégradation oxydative responsables de la dégradation des caroténoïdes, liée à la présence d'oxygène, d'enzymes de métaux et la Co-oxydation en présence des hydro-péroxydes des lipidique (Rodriguez- Amaya et Kimura., 2004). L'ensemble des processus de dégradation des caroténoïdes est résumé dans la figure suivante :



**Figure 4 :** Processus de dégradation des caroténoïdes (Rodrigue-Amaya, 2001).

## II.6. Généralités sur les flavonoïdes

### II.6.1. Définition

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

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

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

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

De point de vue structural les composés se repartissent en plusieurs classes de molécules. En effet, plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et William, 2010).

### II.6.2 Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base d'atomes de carbone. Le dernier est constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par des chaînes. Ces dernières représentent le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes (Heller et For Kmamm 1993 ; Gries Bach, 1996 ; Hashimoto et *al.*, 2004).

La chalcone est métabolisée sous l'action de la chalcone isomérase en flavonones naringénine c'est sur cette dernière qui agit ensuite la flavone synthase ou la (2s)-flavanone-3-hydroxylée pour donner les flavones : apigénine, dihydro flavonol et (2K-3R)-dihydro Kaemphénol respectivement.

### II.6.3 Classification des flavonoïdes

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme suit :

#### II.6.3.1 Flavones et flavonols

Le cycle A de ces deux types de molécules est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et en C7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B est substitué en C4 ou di-substitué en C3 et C4 par des groupements ou méthoxyles (OCH<sub>3</sub>).

#### II.6.3.2 Flavan-3-ols ; flavan-3,4-diols et antho cyanidols

Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4. Cette position peut être libre (flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (flavan-3,4-diols).

Les anthocyanosides sont caractérisées par l'engagement du OH en C3 dans une liaison hétérosidique on trouve parmi les composés, le palargonidol-3,4-O-glucoside et le cyanidol-3-O-rutinoside ou keracyanine.

Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés pronthocyanidols ou tannins condensés (Bruneton, 1999).

#### II.6.3.3 Chalcones et aurones

Sont caractérisées par leur noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tri carbonée. Cétonique et insaturée, le noyau B et assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont plus souvent

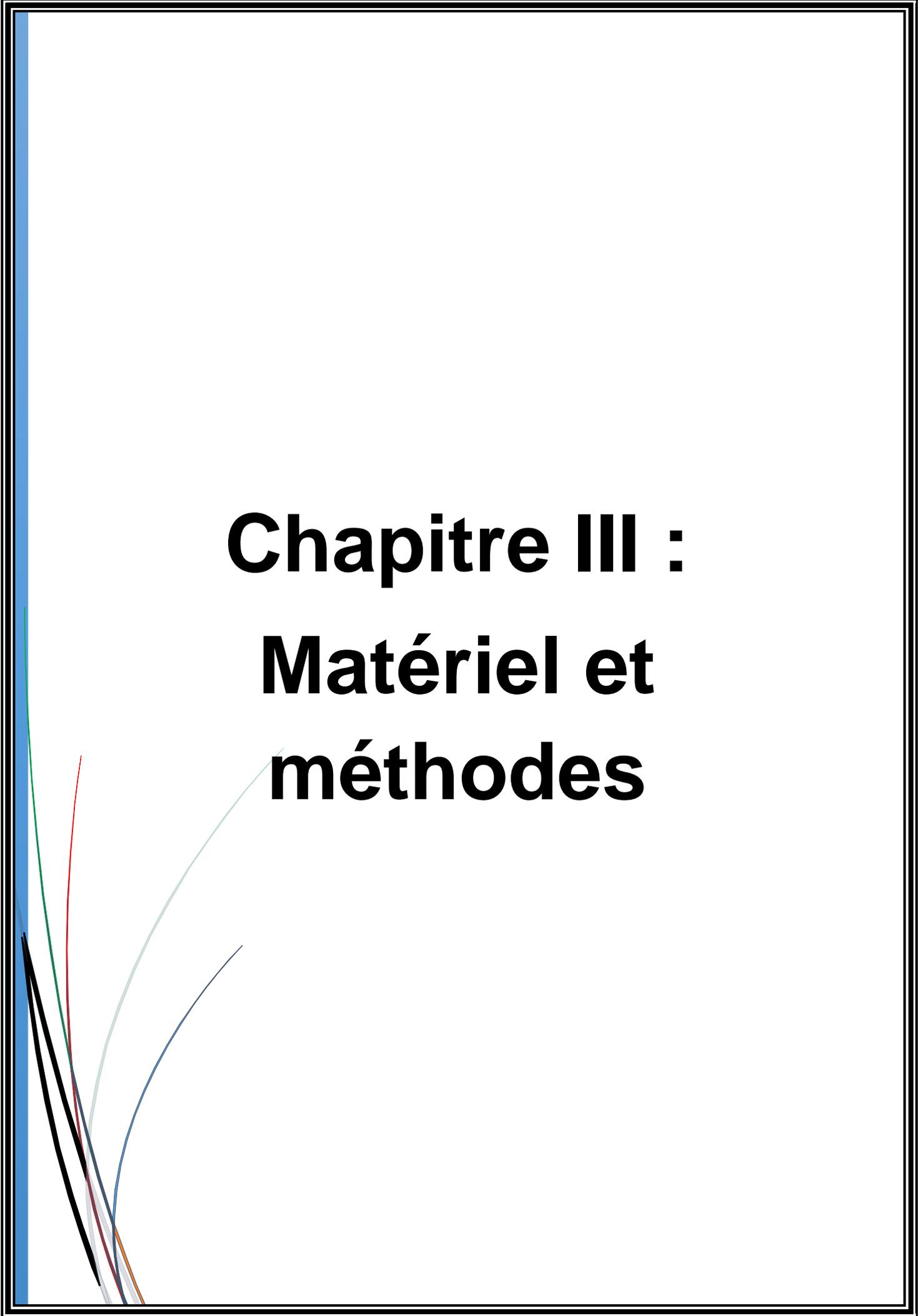
identiques à celles des autres flavonoïdes. Les aurones sont caractérisées par une structure de 2-benzylcdéne coumarone (Bruneton, 1999 ; Ono et *al.*, 2006).

#### **II.6.4. Intérêt thérapeutiques des flavonoïdes**

Les intérêts thérapeutiques des flavonoïdes ont maintes fois été démontrés. Selon, des expériences menées sur des souris ont montré que la quercitrine et la quercitrine avaient une activité antidiarohétique très importante (Galvez et *al.*, 1993).

Le métabolisme de ces composés consistait à augmenter l'absorption des électrolytes et de l'eau par la muqueuse intestinale (Galvez et *al.*, 1993 ). Aussi d'autres flavonoïdes, comme l'apigénine, ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques efficaces (Basil et *al.*, 1999 ; Cusbnie et *al.*, 2003 ; Martini et *al.*, 2004).

De même, les flavonoïdes ont déjà été utilisés pour le traitement des caractères d'origine diététique du fait qu'ils inhibent l'aldose réductase (Goodaizi et *al.*, 2006 ; Ouali et *al.*, 2007)



# **Chapitre III :**

## **Matériel et**

### **méthodes**

### III.1. Cadre de l'étude

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 d'évaluer certaines propriétés biochimiques biologiques (Activité Antibactérienne) des extraits phénoliques (aqueux et éthanolique) d'un fruit *Diospyros kaki*.

Le travail pratique est subdivisé en quatre parties suivantes :

- Caractérisation phytochimique de fruit *Diospyros kaki* L.
- Caractérisation physico-chimique de fruit *Diospyros kaki* L.
- Extraction et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes caractérisant le fruit *Diospyros kaki* L.
- Activité antimicrobienne des extraits phénoliques de fruit *Diospyros kaki* L.

### III.2. Appareillages et réactifs

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

### III.3 Matériel biologique

#### III.3.1 Echantillonnage du fruit

- Le fruit de plaquemine (*Diospyros kaki* L.) a été acheté dans la ville de Tizi Ouzou durant la période allant du mois de novembre à décembre. Vu que ce fruit est très périssable a été conservé au congélateur jusqu'au moment d'analyses de caractérisation.

#### III.3.2.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 II). Toutes les souches testées proviennent du laboratoire de microbiologie de l'Université de Tizi-ouzou.

**Tableau II** : Souches utilisées lors de l'activité microbienne.

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

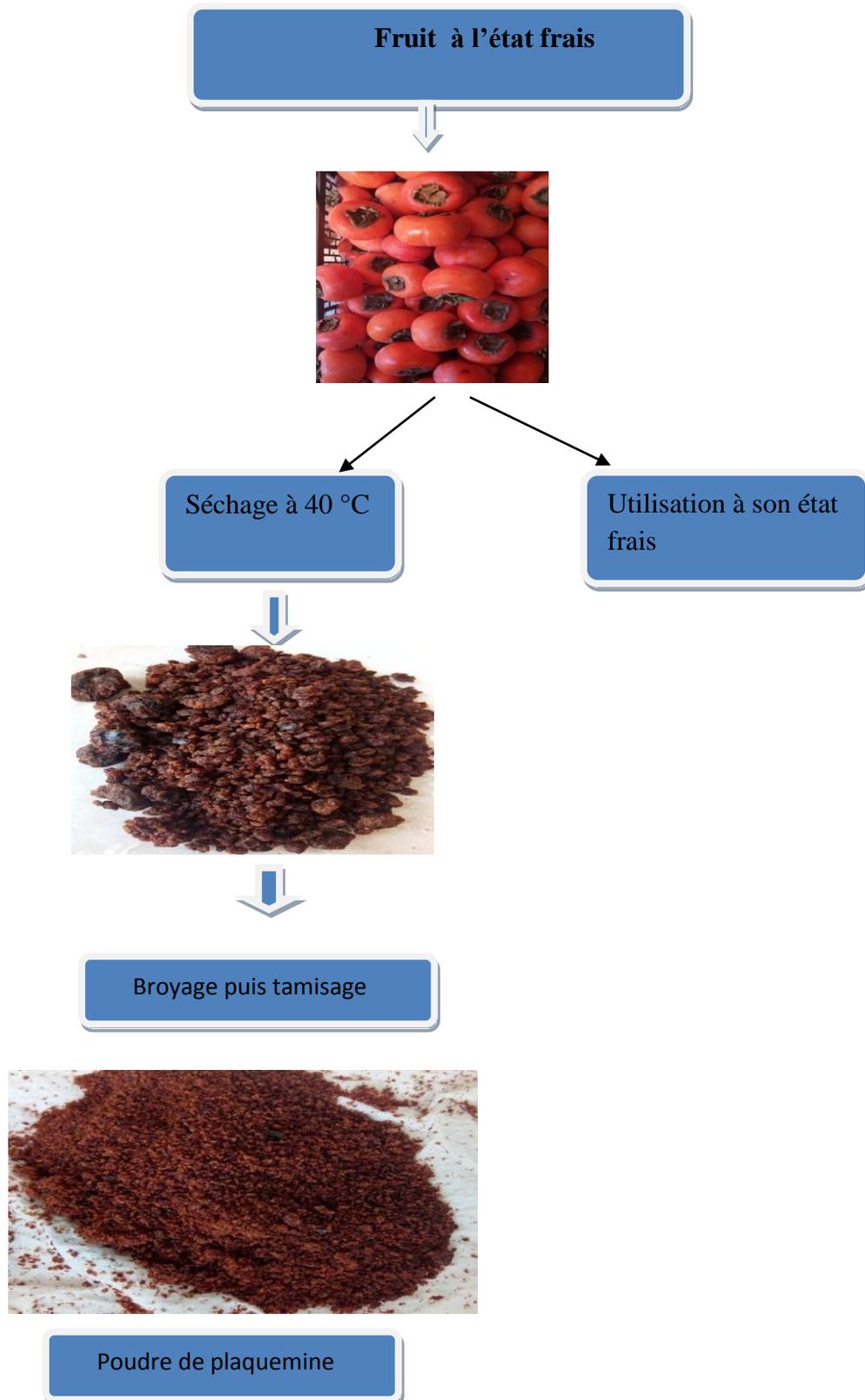
### III .4 Méthodes d'analyses

#### III. 4.1 Obtention de la poudre du fruit analysé

Le séchage des plantes médicinales doit se faire dans un endroit aéré, ombragé, sec et chaud ne doit changer ni la couleur, ni la forme de matériel végétal et ce pour conserver au mieux les constituants actifs de ces plantes. La température de stockage ne doit pas dépasser les 37°C (Ben Ziane et Yousfi, 2001 ).

Le séchage de notre fruit a été réalisé à 40°C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'une matière sèche de l'ordre de 4%. Par la suite, nous avons réalisé un broyage l'aide d'un mixeur puis un tamisage et la poudre obtenue a été conservée à température ambiante à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

Le diagramme de la figure 5 résume les étapes suivies pour la transformation de notre fruit en poudre.



**Figure 5:** Étapes suivies pour la transformation de notre fruit en poudre.

### III.5. Analyse phytochimique de fruit

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

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

#### III.5.1. Préparation de l'infusé

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

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

##### ➤ *Les anthocyanes*

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

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

##### ➤ *Les tanins*

Quelques gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> (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<sub>3</sub>COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub>.

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

##### ➤ *Les flavonoïdes*

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

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

##### ➤ *Les saponosides*

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

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

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

Deux cas sont possibles :

1<sup>er</sup> cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes, le même volume de la mousse.

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

➤ **Les quinones libres**

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

La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette apparaît.

➤ **Les quinones combinées**

5 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2N) ont été ajoutés à 2g de la poudre, on porte le mélange à reflux pendant 2 heures. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre, 20 ml de chloroforme sont ajoutés au filtrat, puis évaporer à sec, reprise par l'ammoniaque.

La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge se manifeste.

➤ **Les alcaloïdes**

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

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

➤ **Les glucosides**

Quelques gouttes d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ont été ajoutés à 2g de la poudre de fruit.

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

➤ **Les coumarines**

20 ml (éthanol / eau distillée) sont ajoutés à 2g 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 (10%) à 3 ou 5 ml de filtrat et quelques gouttes d'HCl à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu fortement acide.

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

➤ **Les sennosides**

On introduit 2,5 g de la poudre de fruit dans une fiole conique plus 50 ml d'eau distillée plus 2ml d'HCL concentré. On procède à un chauffage au bain-marie pendant 15 min, puis à un refroidissement puis on ajoute 40 ml d'éther.

On sépare la phase organique étherée de la phase aqueuse. On sèche la phase étherée sur sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O). Ensuite, on évapore. Lorsque le résidu est refroidi, on lui ajoute 5 ml d'ammoniaque (1/2).

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

### III.6.Caractérisation physico-chimique de fruit

#### III.6.1. Détermination de la teneur en eau (NF V 05-113,1972)

##### *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 10g de l'échantillon, et les placer dans l'étuve ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans un dessiccateur, après refroidissement, on les pèse, l'opération est répétée chaque 15 minutes jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

##### *Expression des résultats*

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

$$\boxed{H(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100} \dots\dots\dots(1)$$

Soit :

H(%) : humidité,

M<sub>1</sub> : masse de la capsule + la matière fraîche avant séchage en g ;

M<sub>2</sub> : masse de la capsule + la matière après séchage (g) ;

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

$$\boxed{\text{Matière sèche \% : } 100 - H\%} \dots\dots\dots(2)$$

**III.6.2. 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.

***Mode opératoire***

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

***Remarque***

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

**III.6.3. Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113,1972)*****Principe***

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

***Mode opératoire***

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

$$MO\% = \frac{M1-M2}{P} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

Soit :

MO : matière organique en (g) ;

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

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

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

$$\boxed{T_c\% = 100 - MO\%} \dots\dots\dots (4)$$

Soit :

Tc : Taux de cendres.

### III.6.4. Détermination des éléments minéraux (NF V05-113,1972)

#### *Principe*

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

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

#### *Mode opératoire*

- Après calcination de 10,5g de matière sèche (le fruit) récupérer les cendres obtenues ;
- Humecter lentement les cendres par 3 ml d'eau bi distillée et 3 ml d'acide chlorhydrique concentré pour assurer une franche réaction acide ;
- Chauffer sur une plaque chauffante douce sans dépasser 250°C jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Laisser reposer quelques minutes ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer 3 à 4 fois à l'eau bi distillée de 30 à 40°C ;
- Incinérer le papier filtre et son contenu pendant une demi-heure à 550°C au maximum dans le four à moufle ;
- Ressortir après refroidissement les capsules ;
- Humecter une deuxième fois par 5 ml d'acide chlorhydrique à 37% ;
- Mettre les capsules pour une deuxième fois sur la plaque chauffante jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Ajouter 1ml HCl ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans la même fiole jaugée 100 ml et laver avec de l'eau tiède ;

- Amener à 100 ml, 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.6.5. Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-108,1997)

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

#### *Mode opératoire*

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

#### *Expression des résultats*

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$\boxed{A(\%) = \frac{175 \times V_1}{V_0 \times M}} \dots \dots \dots (5)$$

Soit :

M : masse prélevée en gramme ;

V<sub>0</sub> : volume en ml de la prise d'essai ;

V<sub>1</sub> : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.

**III.6.6. 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 de lancer les dosages, on prépare les solutions de Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de composition suivante :

➤ **Filtrat(1)**

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

➤ **Filtrat (2)**

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

➤ **Dosage des sucres totaux**

**Mode opératoire**

- Prélever 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B;
- Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet;
- Chauffer le contenu jusqu'à ébullition durant 2mn ;
- Titrer par le filtrat(2) obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;
- Ajouter 2 gouttes de bleu 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 estimée dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

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

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

*Expression des résultats*

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

$$S_R = \frac{240}{V \times (V_1 - 0.05)} \dots\dots\dots(7)$$

Soit :

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

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

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

➤ *Taux de saccharose*

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

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

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.6.7. Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage direct par la méthode iodométrique a été adopté.

#### *Principe*

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

#### *Mode opératoire*

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

#### *Expression des résultats*

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

$$Y = N \times 20 \times 4.4 \text{ d'acide ascorbique par litre.} \dots\dots\dots (9)$$

Soit :

N : nombre de ml d'iode versés ;

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

### III.7.1. Dosage des polyphénols totaux

#### *Principe*

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

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

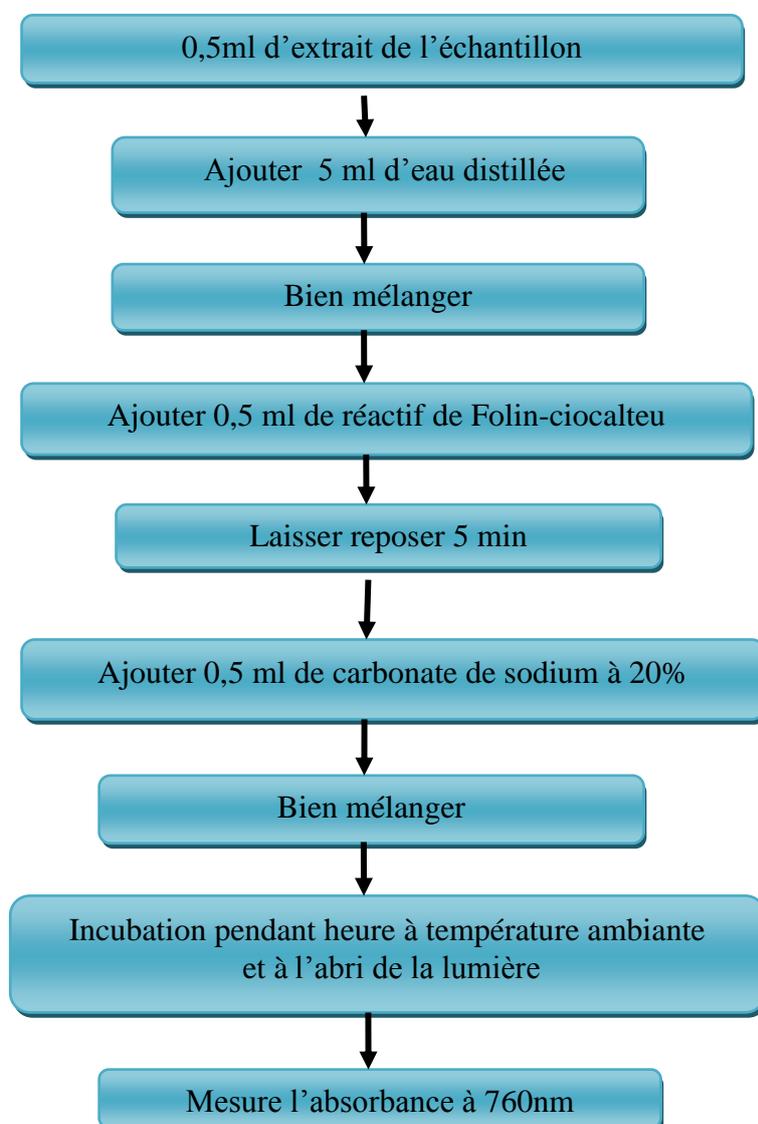
**Mode opératoire**

Le matériel végétal broyé (10g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (50 ml) pendant 72 h puis les extraits sont filtrés (Figure 6).



**Figure 6** : Filtration des extraits aqueux et éthanolique de fruit *Diospyros kaki* L.

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



**Figure 7** : diagramme de dosage des polyphénols totaux (Singleton et al.1999)

➤ *Courbe d'étalonnage*

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

Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant l'acide gallique comme standard (annexe 2).

*Expression des résultats*

Les résultats des polyphénols sont exprimés en milligramme d'Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière Sèche de fruit (mg EAG /g MS).

### III.7.2. Dosage des flavonoïdes

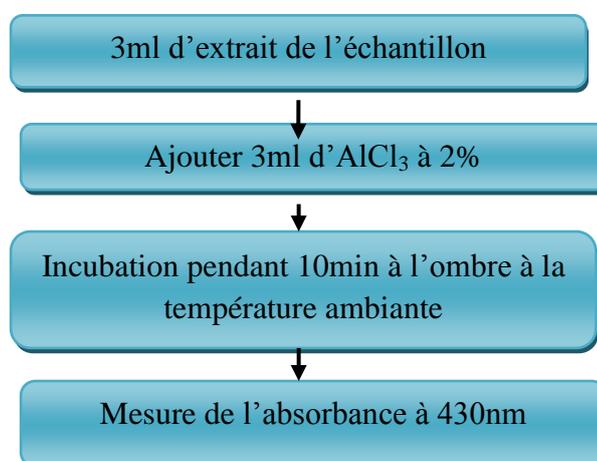
La méthode du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (Kosalec et al., 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits (aqueux et éthanolique) de notre fruit (Figure 8).



**Figure 8** : extraits de flavonoïdes de *Diospyros kaki* L.

(à droit: Extrait éthanolique à gauche : Extrait aqueux)

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



**Figure 9** : Etapes de dosage des flavonoïdes (Kosalec et al., 2004)

✓ *Courbe d'étalonnage*

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

*Expression des résultats*

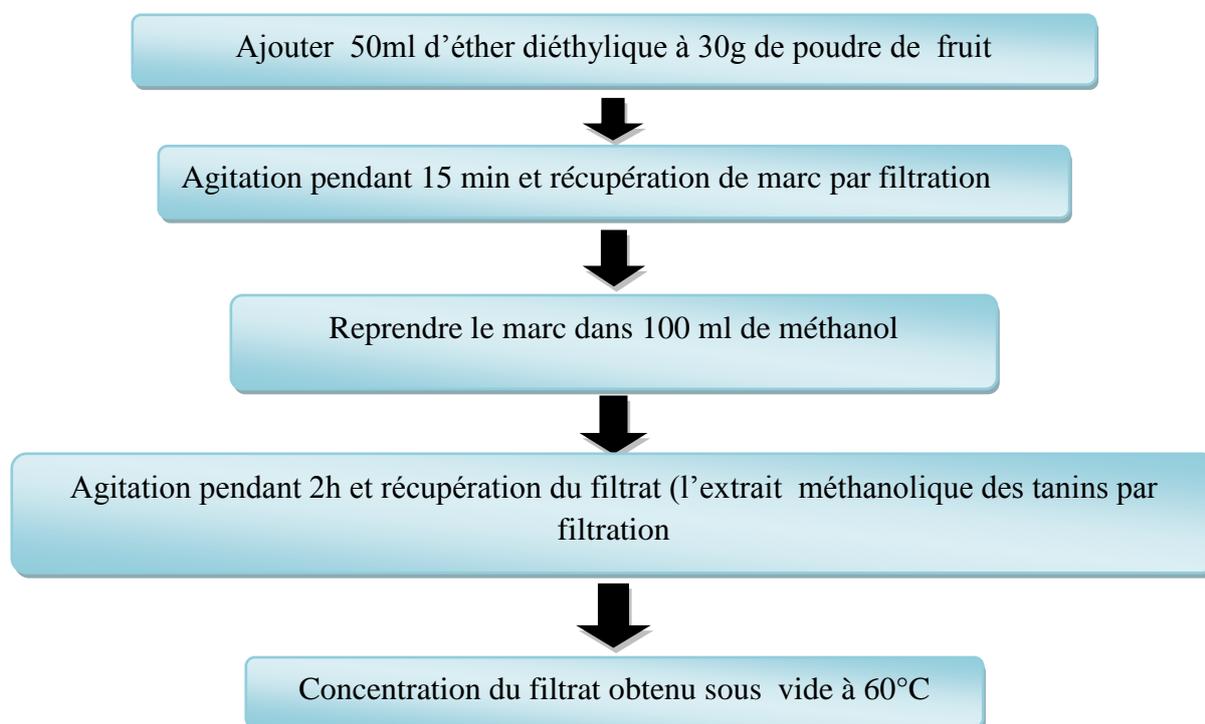
La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'Equivalent de Quercétine par gramme de poids sec de l'extrait.

### III.8.Extraction des tannins

Pendant l'étape d'extraction, certaines précautions ont été prises afin de protéger les tanins de toute dégradation éventuelle induite par la lumière (Garcia Perez, 2008). Cependant, la verrerie d'extraction a été entièrement recouverte de papier d'aluminium.

➤ **Extraction par des solvants**

Dans cet essai l'extraction a été faite en réalisant deux types de macération; la première dans l'éther diéthylique pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique, la deuxième, dans le méthanol pour récupérer l'extrait méthanolique des tanins (Bruneton, 1999; Biayem, 2002). Les étapes sont expliquées dans le diagramme de la Figure 10.



**Figure 10** : Etapes d'extraction des tannins (Garcia, 2008).

### III.9 Analyse rhéologique des poudres

On distingue deux grandes classes d'analyses rhéologiques des poudres en pharmacologie soit on a recours à des méthodes directes qui reflètent directement la taille des particules (la microstructure), soit à des méthodes indirectes qui considèrent que la taille des particules comme un paramètre susceptible d'intervenir dans un phénomène physique en l'occurrence les mouvements des particules (la granulométrie, l'indice de gonflement).

Lors de notre étude nous avons opté pour l'un des paramètres qui caractérise le mouvement des particules à savoir : la granulométrie.

#### III.9.1 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 (Figure 10) permet de mesurer des particules sphériques à partir de  $0,05\mu\text{m}$ .

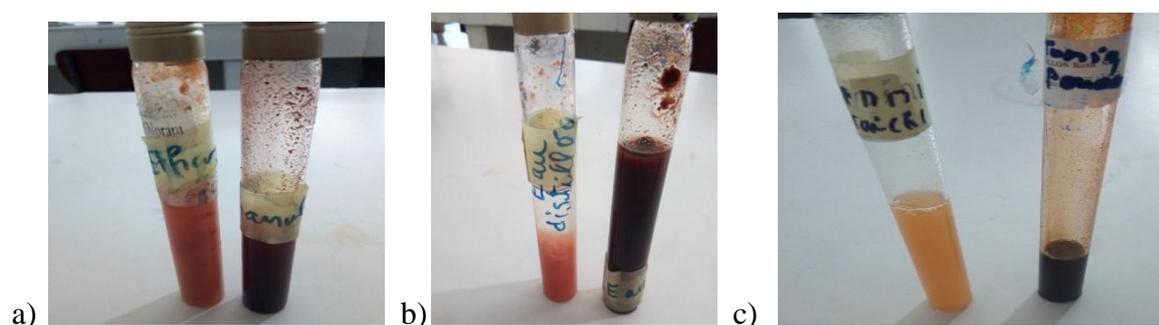
Cette analyse a été réalisée au niveau de la Faculté des Sciences de l'Ingénieur de l'Université de Boumerdès.



**Figure 11** : Granulométrie laser MASTERIZER 2000 version 4.0

### III.10 Activité antimicrobienne

La détermination de l'activité microbienne des extraits phénoliques (aqueux et éthanoliques) de *Diospyros kaki* L. (Figure 12) a été évaluée vis – à – vis des souches microbiennes.



**Figure 12** : aspect des composés phénoliques de *Diospyros kaki* L.

- a) Extrait aqueux et éthanolique de la matière fraîche; b) Extrait aqueux et éthanolique de la poudre de fruit et c) tannins extraits à base de la poudre et le fruit à l'état frais.

#### ➤ Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour réaliser l'activité antimicrobienne sont : la gélose Muller Hinton (MH) utilisée pour la culture des souches bactériennes, le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) utilisé pour les souches fongiques. La composition des deux milieux est présentée dans l'annexe 1.

#### ➤ Préparation des disques

Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre ont été préparés et stérilisés après une mise dans un tube à essai au moyen d'un autoclave et conservés jusqu'au moment de leur utilisation.

#### ➤ Préparation des prés cultures

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes Pétri contenant le milieu MH et incubées pendant 18 à 20h à 37°C. De même, les souches fongiques à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA incubées à 30°C pendant 72h.

➤ **Standardisation des suspensions bactériennes**

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

L'absorbance (densité optique) des suspensions bactériennes et de la levure est mesurée à une longueur d'onde de 620nm et doit être comprise entre 0,08 et 0,1 (Benhammou et *al.*, 2008).

Dans le cas d'*Aspergillus Niger* un comptage des spores sur la cellule de malassez a été réalisé après prélèvement des spores jeunes (cultures de 3 jours) dans 10ml d'eau physiologique

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

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

Les disques préparés sont imbibés par 20 µl de chaque extrait. Par ailleurs, le Mueller-Hinton stérile est coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laisser refroidir.

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

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

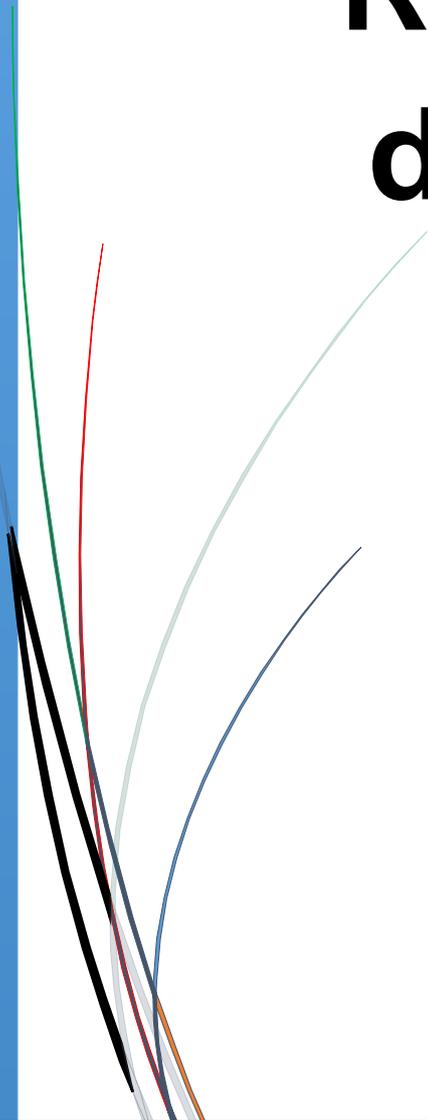
L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après la durée d'incubation à la température du germe testé.

**Lecture**

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

- Souche non sensible (-) ou résistante : diamètre < à 0,8 cm ;
- Souche sensible (+) : diamètre compris entre 0,9 et 1,4 cm ;
- Souche très sensible (++) : diamètre compris entre 1,5 et 1,9 ;
- Souche extrêmement sensible (+++) : diamètre > à 2 ,0cm.

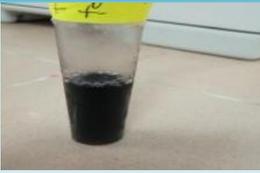
# **Chapitre IV : Résultats et discussion**



### IV.1. Résultat de l'analyse phytochimique

Le tableau III résume les résultats des tests phytochimiques effectués sur la matière fraîche du fruit.

**Tableau III :** Résultats du screening phytochimique de fruit de *Diospyros kaki* L.

Métabolites secondaires	Coloration	Quantité	Résultats
Anthocyanes	Rouge	-	
Tanins	Bleu noir	+++	
Tanins galliques	Bleu foncée	+++	
Flavonoïdes	Rouge orange	++	
Quinones libres	Blanchâtres	+	
Quinones combinés	Orange	-	
Saponosides	Présence de mousse	+++	
Alcaloïdes	Rouge brique	++	

Sennosides	Rouge	-	
Glucosides	Rouge brique ensuite violette	+++	
Coumarines	Apparition d'un trouble	+	

Les résultats de cette analyse démontrent que, le fruit *Diospyros kaki* L. est riche en composés secondaires tels que les tannins, les tannins galliques, les flavonoides, les glucosides et les saponosides.

D'après (Ahn et *al.*, 2000) les tannins sont l'une des catégories importante de molécules bioactives présente dans la pelure de kaki avec un poids moléculaire allant jusqu'à  $1,12 \times 10^4$  da.

Il contient des résidus d'acide gallique liés au glucose via des liaisons glycosidique (Wu et Hwang, 2002 ).

De même les quinones combinés les anthocyanes et les sennosides sont absents dans ce fruit.

### IV.2. Résultats de quelques paramètres physico-chimiques

Les résultats des paramètres physico-chimiques de fruit de *Diospyros kaki* L. à l'état frais sont résumés dans le tableau IV. Les résultats sont présentes sous forme de la moyenne de deux essais  $\pm$  écart-type(ET).

**Tableau IV :** Résultats de quelques paramètres physico-chimiques de fruits *Diospyros kaki* (matière fraîche).

<i>Paramètres physico-chimiques</i>	<i>Variété de Diospyros kaki</i>	<i>Variété de Diospyros kaki (yémon) Souci et al., (2004)</i>
<b>pH à 20°C</b>	5,55±0,21	6.7
<b>Acidité titrable (%)</b>	0.28±0.93	/
<b>Teneur en eau (%)</b>	78,05±0,73	80
<b>Teneur en cendres (%)</b>	0,49±0,028	0.5
<b>Sucres totaux</b>	17,34±1,902	15
<b>Sucres (g/l)</b>	<b>Taux de saccharose</b>	15,81
	<b>Sucres réducteurs</b>	0.694±0.07
<b>Acide ascorbique (mg/l)</b>	853±24,04	509 et 545
<b>Matière organique (%)</b>	99,51±0.028	/

Les résultats du tableau IV révèlent que le fruit analysé présente un pH légèrement acide, et une acidité titrable qu'est relativement faible. En outre, il est très riche en eau (78,77%). Ces résultats sont en accords avec ceux signalés par (Sousi, Fachimann et Kraut., 2004) travaillant sur la même variété de fruit. Ainsi, notre fruit est très riche en matière organique. Néanmoins, il possède une quantité de sucres légèrement élevée par rapport à celle de la variété *yémon*.

Notre fruit est très riche en acide ascorbique (853±24,04) en comparant avec les résultats signalés par (Femminia.,1977). Ce dernier a étudié l'effet de la température de conservation de la variété *Diospyros kaki* sur la teneur en acide ascorbique. Cet auteur a montré que, la teneur en vitamine C de *Diospyros kaki* à l'état frais était comprise entre 85,69 et 102,47mg/100g ou entre 460,872 et 541,24mg/100g en poids sec. Dans le cas où le fruit est congelée la teneur en vitamine C est comprise entre 509,223 et 545,137mg/100g en poids sec.

### IV.3. Composition minérale

Les résultats d'analyse de la composition minérale de la poudre de *Diospyros kaki* L. sont présentés dans le tableau V.

**Tableau V:** Composition minérale de fruit *Diospyros kaki* (mg/Kg MS).

Composants minéraux	Valeurs (mg/kg MS)
Fe	<b>442,889</b>
Zn	<b>137,8521</b>
Cu	<b>487,768</b>
Na	<b>27563,37</b>
Cd	-
Cr	<b>58,135</b>
Pb	-
Mg	<b>17444,17</b>
Ca	<b>21695,79</b>

Les résultats présentés dans le tableau V révèlent que le fruit *Diospyros kaki* L. est riche en minéraux essentiels à l'organisme (sodium, calcium et le magnésium). Néanmoins, les autres minéraux tels que : le fer, le cuivre et le zinc se trouvent à des teneurs plus au moins importantes. De point de vue toxicité, le fruit en question possède des teneurs négligeables en métaux lourds (le plomb, le cadmium,).

En effet, la richesse en minéraux peut s'expliquer par les conditions de culture (climat humide et même le type de sol).

### IV.4. Analyse des composés phénoliques

Les teneurs en PPT et en flavonoïdes extraits d notre fruit sont données sous la forme de moyenne de trois essais  $\pm$  écart-type (Tableau VI).

**Tableau VI :** Résultat de dosage de PPT et des flavonoïdes des extraits de fruit frais.

Extrait	Teneur en polyphénols (mgEAG/g MS)	Teneur en flavonoïdes ( (mgEQ/g),
Extrait ethanolique	140,01±0,354	30,97±2,75
Extrait aqueux	75,6±0.645	20,78±1,86

Les résultats de tableau ci-dessus démontrent que l'éthanol est un meilleur solvant d'extraction des PPT et des flavonoïdes en comparaison avec l'eau.

En effet, selon Jaropic et *al.*, (2009), rapportent que l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques dépend du type de solvant.

La variation des acides phénoliques totaux dépend en grand partie de solvant emporté des substances non phénoliques comme, les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant une évaluation phénolique (Djerdane et *al.*, 2006). Le dosage par le réactif de Folin ciocalteur donne une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait, il n'est pas spécifique aux polyphénols mais beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha et *al.*, 2007) .

Clementine et *al.*, (2012), ont démontré dans leurs travaux de recherche que l'éthanol est le meilleur solvant que l'eau, il solubilise correctement les composés moyennement polaire et peut entraîner aussi des substances lipophiles résiduelles, l'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement en composés phénoliques glycosylés et des phénols avec un degré de polymérisation plus élevé.

La quantité des polyphénols totaux a été rapportée en microgramme équivalent de quercitine par gramme de poids sec de l'extrait. Les valeurs sont données sous la forme de moyenne de trois essais ± écart-type.

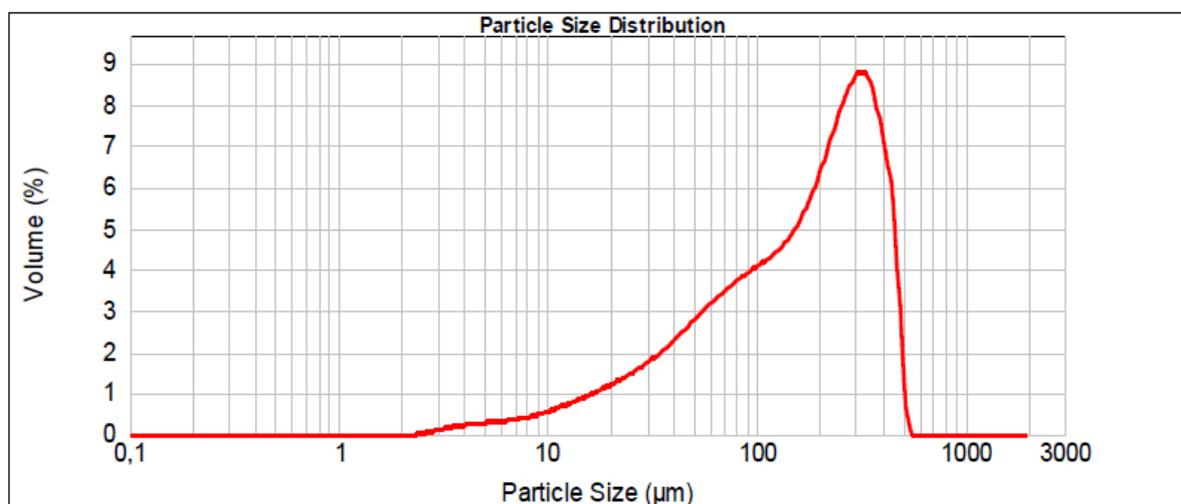
Pour le fruit de *Diospyros kaki* L. certains composants sont prédominant par exemple les oligomères, flavonoïdes, les tannins, les acides phénoliques (Do et *al.*, 2003). En outre on trouve les caroténoïdes (Hommava et *al.*, 1990 ; Yakozawa et *al.*, 2007).

Des études faites par (Niaz et *al.*, 2017) dévoilent que la teneur en flavonoïdes peut atteindre 6g/RG chez *Diospyros kaki*.

Nous pouvons conclure de cette analyse que les plaquemines sont riche en flavonoïdes ce qui lui confère plus de propriétés biologiques.

### IV.5. Résultats de la granulométrie

Les résultats de la granulométrie de la poudre de notre fruit séché à 40°C ce sont présentés dans la figure 13



**Figure 13 :** Distribution granulométrique de la poudre de fruit de *Diospyros kaki* L.

L'analyse de la granulométrie révèle que la poudre analysée possède un grain majoritaire (90%) de taille de (386.759µm). Cette poudre présente une propriété pharmacodynamique très intéressante (bon écoulement). Notamment, cette taille est très intéressante de point de vue transfert et libération des substances bioactives. Ceci est attribué à la composition de la chair de notre fruit qui est composée de substances qui se désintègrent facilement. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Benahmed Djilali et *al.* (2016) qui ont travaillé sur le séchage doux de fruit de jujube.

Il est intéressant de recommander le séchage doux comme moyen de conservation de notre fruit. Ainsi, la poudre obtenue présente plusieurs modes d'application (alimentaire et pharmaceutique) (pastilles, compotes pour bébé, sirop antidiarhéique).

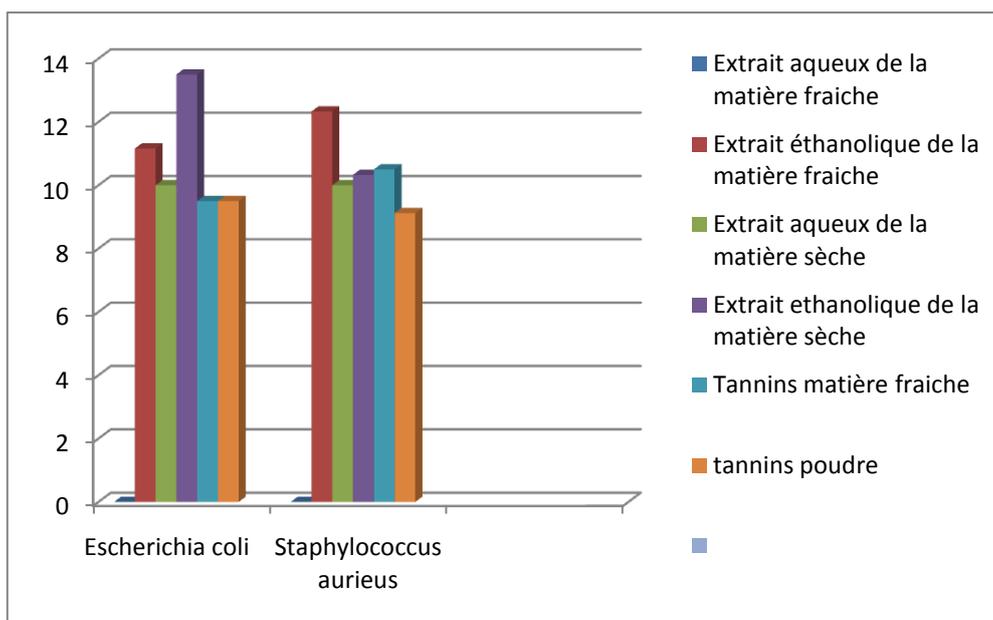
**IV.6. Résultats de l'activité antibactérienne**

Les résultats du test de l'activité anti-microbienne des extraits phénoliques (PPT, flavonoïdes et tanins) de *Diospyros kaki* L. à l'état frais et séché vis –à-vis les souches testées sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau VII :** Diamètres (mm) des zones d'inhibition (moyenne ± ET) exprimés pour les extraits de la matière fraîche et de la poudre (n=3 et n=2) vis-à-vis *E coli* et *S aureus*.

Microorganismes testés	Diamètre d'inhibition (mm)					
	<i>D.kaki</i> L. frais		<i>D.kaki</i> L. séché à 40°C		Tannins	
	Extrait Aqueux	Extrait Ethanolique	Extrait aqueux	Extrait Ethanolique	Matière Fraîche	Poudre
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	11,16±0.28	10±1.73	13,5±2.12	9,5±0.7	9,5±1.41
	-	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> ATCC	0	12,33±2,30	10±1,0	10,33±0.76	10,5±0.7	9,12±0,17
	-	+	+	+	+	+

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



**Figure 14 :** Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition en (mm)

des extraits éthanoliques de la matière fraîche et de la poudre de *Diospyros kaki* L vis-à-vis *E coli* et *S aureus*.

D'après le tableau VIII, on peut déduire l'effet antimicrobien de fruit *Diospyros kaki* L. sur l'ensemble des souches testées. Cet effet est dû à la présence des flavonoïdes, des polyphénols et des tanins qui sont des métabolites secondaires réputés pour des effets antibactériens (Havsteen, 2002).

Ces résultats montrent clairement que l'extrait éthanolique issu de fruit séché présente une grande zone d'inhibition ( $13,5 \pm 2,12$ ) vis-à-vis *E-coli* ATCC 25922.

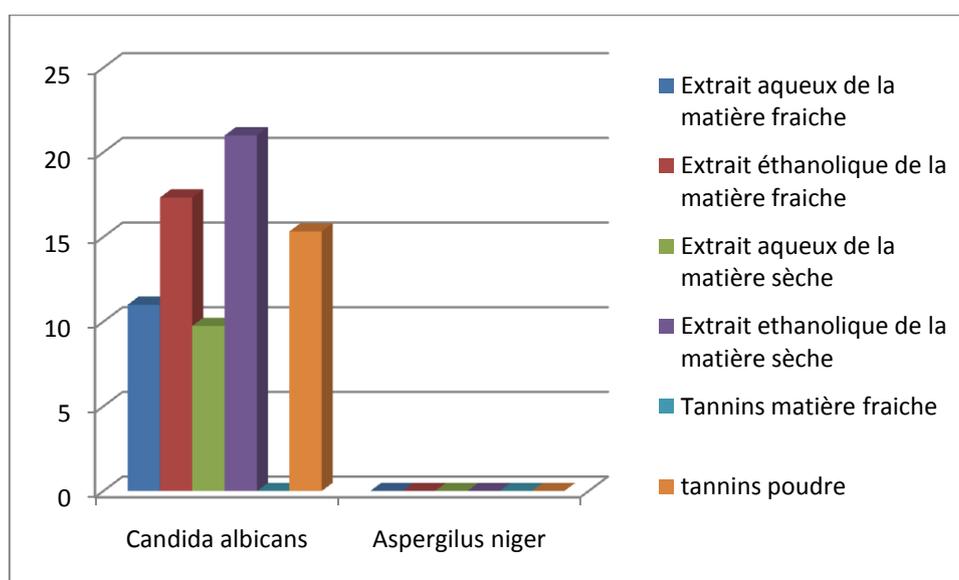
Toutefois, l'extrait éthanolique issu de fruit frais présente des zones de diamètres qui varient entre ( $10 \pm 1,73$ ) et ( $11,16 \pm 0,21$ ) vis-à-vis *E.coli* ATCC 25922 et des zones plus importantes vis-à-vis *S-aureus* ATCC qui présentent un diamètre variant de ( $12,33 \pm 2,30$ ) et ( $10 \pm 1,0$ ).

L'extrait éthanolique issu de la poudre de fruit présente le même effet sur *S-aureus* ATCC et *E-coli* ATCC 25922.

L'extrait aqueux issu de fruit frais ne présente aucune activité inhibitrice vis-vis de toutes les souches testées.

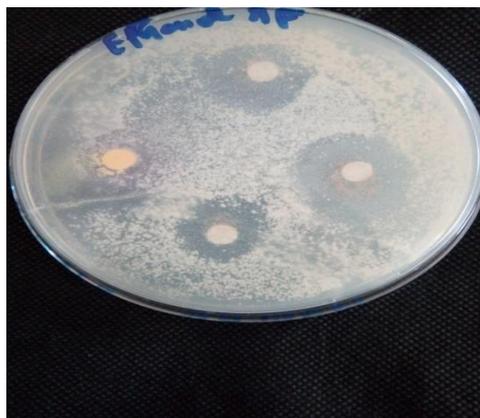
**Tableau VII :** Diamètres (mm) des zones d’inhibition (moyenne ± ET) exprimés pour les extraits de la matière fraîche et de la poudre (n=3 et n=2) vis-à-vis *C albicans* et *A niger*.

Microorganisme testés	Diamètre d’inhibition (mm)					
	<i>D.kaki</i> L. frais		<i>D.kaki</i> L. séché à 40°C		Tannins	
	Extrait aqueux	Extrait Éthanoïque	Extrait aqueux	Extrait éthanoïque	Matière fraîche	Poudre
<i>Candida albicans</i>	11±1,01	17,33±2,30	9,75±0.35	21,33±2,08	0	15,33±2,5
	+	++	+	+++	-	++
<i>A niger</i>	0	0	0	0	0	0
	-	-	-	-	-	-



**Figure 15 :** Représentation graphique des diamètres des zones d’inhibition en (mm)

des extraits éthanoliques de la matière fraîche et de la poudre de *Diospyros kaki* L.



**Extrait éthanolique MF**



**Extrait éthanolique de la poudre**

Nous constatons d'après le graphe (Figure 15) que l'extrait éthanolique issu de la poudre du fruit analysé montre une grande zone d'inhibition ( $21,33 \pm 2,08$ ) vis-à-vis *Candida albicans* en comparaison avec l'extrait aqueux ( $17,33 \pm 2,30$ ) vis-à-vis la même souche. Cette différence peut être expliquée par la disponibilité des composés phénoliques qui sont mieux libérés dans l'éthanol que dans l'eau.

Concernant l'effet des tanins, nous remarquons que les tanins issus du fruit à l'état frais ont présenté une activité inhibitrice contre *Candida albicans* ( $15,33 \pm 2,5$ ). Néanmoins, ceux issus de la poudre de fruit n'ont exercé aucune activité antifongique vis-à-vis la même souche fongique. Le même effet a été observé pour la deuxième souche fongique *Aspergillus niger* qui s'avère résistante vis-à-vis les extraits (aqueux et éthanolique) issus de fruit à l'état frais.

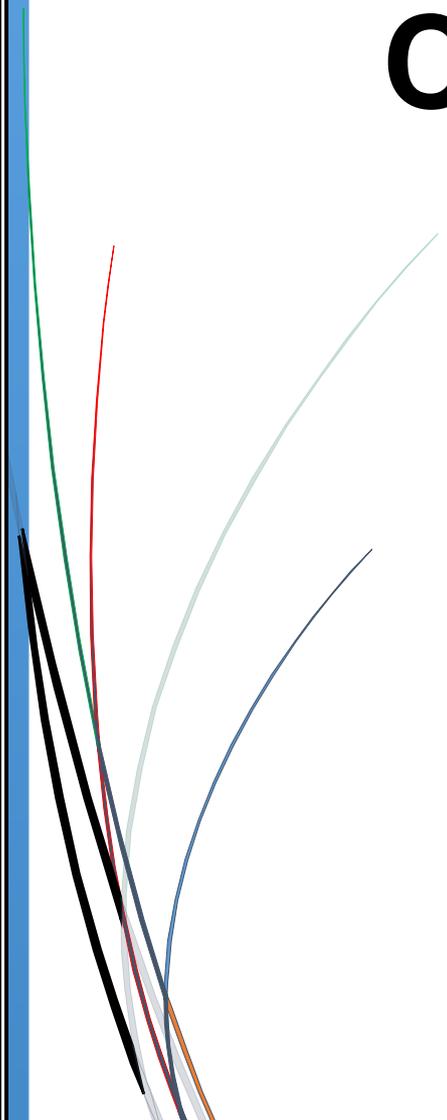
En outre, *Candida albicans* révèle résistante en présence de l'extrait aqueux de fruit.

L'inhibition peut être expliquée par deux par deux effets : effet de la température de séchage de fruit ou bien effet du solvant d'extraction. Les deux effets ont un impact sur la disponibilité des substances bioactives.

En effet, la température de séchage influence d'une part la disponibilité, la nature et la concentration des (tanins, tannins galliques, flavonoïdes.....) existants dans la poudre, et d'autres part, l'éthanol peut pénétrer dans les parois des levures et des moisissures contrairement à l'eau qui ne diffuse pas dans les parois de celles-ci. vu leur structure qu'est constitué de trois polysaccharides :  $\beta$ -1,3 glucane, la chitine et la maniane associées par des liaisons chimiques (Farkas et *al.*, 1985).

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

# Conclusion



Cette étude avait pour objectif d'étudier quelques propriétés physico-chimiques biologiques et rhéologiques de fruit de plaqueminier (*Diospyros kaki* L.) qu'est un fruit exotique cultivé en Algérie possédant des propriétés nutritionnelles et thérapeutiques qui sont méconnues par le consommateur algérien.

Les résultats de caractérisation de quelques paramètres physico-chimiques de ce fruit à l'état frais démontrent que le fruit *Diospyros kaki* L. est riche en eau avec une teneur de 78,0%.

Les résultats du screening phytochimique révèlent que ce fruit est riche en tannin, tannins galliques, caroténoïdes, glucosides. En outre, ce fruit constitue une source importante en sodium, calcium, magnésium.

L'éthanol a montré un taux d'extraction élevé en polyphénols ( $140,01 \pm 0,354$ ) en comparaison l'extrait aqueux ( $76,5 \pm 0,645$ ).

L'analyse de la granulométrie montre que la poudre de fruit séché à 40°C démontre une taille de grain majoritaire de  $386,759 \mu\text{m}$ . Cette poudre possède une propriété pharmacodynamique très intéressante (bon écoulement).

Les résultats de l'activité antimicrobienne montrent que les extraits éthanoliques préparés à base de fruit séché à 40°C et de fruit frais présentent une meilleure activité antimicrobienne contre les souches testées *E coli* et *S aureus*, *C albicans*, *A niger*. Contrairement les extraits préparés à base de fruit frais et séché à 40°C en testant la même dose. Ainsi la meilleure zone ( $21,33 \pm 2,08$ ) est observée pour l'extrait éthanolique à base de fruit séché à 40°C vis-à-vis la levure *Candida albicans*.

Les tannins de fruit frais et de la poudre ont une même activité vis-à-vis *E-coli* avec une zone d'inhibition de diamètre  $9,5 \pm 0,5$  et présentent une meilleure zone d'inhibition vis-à-vis *condida albicans* de diamètre de  $15,33 \pm 2,5$ .



# **Références bibliographiques**

- **Ahn H.S., Jeon T.I., Lee J.Y., Hwang S.G., Lim Y., Park D.K. (2002).** Activité antioxydante du kaki et de l'extrait de pépins de raisin: in vitro. *NutrRes.* 22 : 1265-1273.
- **Ames B.N., Gold I. S., Willett M., Bodas R., Giraldez F., Gonzalez J. (1994).** Feeding quebracho tannins to sheep enhances rumen fermentative activity to degrade browse shrubs. *Anim. Feed sci. Technol.*, 145 (1): 1- 15.
- **Amorim-Carriho K.T., Copeda A., Fentec., regal. (2014).** Review of methods for analysis of carotenoids- trends in analytical chemistry, 56. 49. 73.
- **Asgar M.A., Yamanchi K. (2003).** Modification of pectin in Japanese persimmon fruit during the sun- drying process. *Food chemistry*, 81- 555- 560.
- **Audigie C., Figgrella J., Zonsizain F. (1978).** Manipulation d'analyse biochimique. Doin(Ed). Paris, 247.
- **Bannforth cw. (2000).** Perception of foam. *J inst. Brew.*, 106: 229- 38.
- **Basil A., Giordanos L., Saezj A., Cobiانchi B.C. (1999).** Antibacterial activity of pure flavonoïds isolated from mosses. *Phytochem.*, 2 (8): 1419- 82.
- **Ben ziane et Yousfi. (2001).** Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Djelfa.
- **Benahmed Djilali A, Nabiev M, Gelicus A, Benamara S, and Allaf K, (2016).** Evaluation Of Physical-Chemical, Parmacodynamic And Pharmacological Attributes Of Hot Air Dried And Swell Dried Jujube Powders. *Journal of Food Process Engineering*, 1745–4530.
- **Benhammou N., Atik Bekkara F., Kadifkova P. (2008).** Antiradical capacity of the phenol compounds of *Pistacia Lentiscus* L. and *atlantica* Desf, *Advances in Food Sciences.* 29(3), 155- 161.
- **Benjelali B, Tantaoui E.A., Esmaili-Alaoui M. (1986).** Méthodes d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Planta médicinales et phytherapie*, 20, 155- 167.
- **Biozot N., et Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composé phénolique des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79. 82.
- **Blanchards. E., Lustenberger. F., Dupus. S., (2001).** Plantes hôtes des mouches des fruits, Maurice-Réunion- Seychelles, Cirad- Coleacp, p190.

- **Brahimi Dj., et Karrou L. (2016).** Etude comparative de deux procédés de séchage de pyracanthacoccinea : Evaluation biologique de certains composés phénoliques. Master en Biotechnologie microbienne. U.M.M.T.O, 78p.
- **Britton G.(1995).** Structure and properties of caroténoïds. Relation to function. *Faseb journal*, 9 (15). 1551- 1558.
- **Bruneton J. (1999).** Les tannins. Edition médicales internationales. Paris. 369- 404.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. p: 227-310-312-313-314.494.
- **Clark C.J., Mocfoll J.S. (2003).** Quantitative magnetic resonance imaging of “ fuyu” persimmon fruit during, 21- 679- 685.
- **Clementine B ., Mathie S ., Elena V ., Ilonra S. (2012) ;** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachid (*Arachis hypogaea* L) *Revue de génie industriel*, 35-45.
- **Colle I.J.P., Lemmenr I., Van Buggenhouts., Van Loey A. M., Hendrickx M. E.(2013).** Modeling lycopene degradation and isomerization in the presence of lipids. *Food and bioprocess technology*, 6 (4). 909- 918.
- **Collins R.J., Tisdell J.S.(1995).** The influence of storage time and temperature on chilling injury in fuyu and suruga persimmon (*diospyros kaki* L) grown in subtropical Australia. *Postharvest biology and technology*. G, 149- 157.
- **Crozier A., Clifford M. N., Ashihara H. (1996).** Plant secondary metabolites occurrence, structure and role in the human health (1<sup>st</sup> edition) (2006). Blackwell publishing l. Td.
- **Cu<sup>-2</sup> induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase.** *Feds lett*, 401: 230- 4.
- **Cushnie TP, Hamilthoh VES, Lamb AJ. (2003).** Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res.*, 158(4): 281-9.
- **Dahou N., Yamnik K., Tahrouch S., Idrissi L M., Badoc A. & Gmira N.(2003).** Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-Marocaine *Thymelaealythroïdes*. *Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux*, 142, 61- 78.
- **Dangles O, Stoeckel C, Wigand MC, Brouillard R. (1992).** Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.*, 33: 5227-30.

- **Daood H.G., Biacs P., Czinkotai B., Hoschke J. (1992).** Chromatographic investigation of carotenoids sugars and organic acids from diospyros kaki fruits food chemistry, 45- 151- 155.
- **De Mejia EG.(2005)** Tannins, Trypsin inhibitors and lectin cytotoxicity in therapy (*Phaseolus ocutifolins*) and common (*Phaseolus vulgaris*). Plant Food Hum. Nutr. 60 (3):137-45.
- **Del Bubba M, Giordanie E, Pippucci L, Cincinelli A, Checchini L, Galvan L. (2009).** Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth 104 and ripening and in response to different postharvest treatments. J. Food Comp. Anal., 22 (7-8): 668-77.
- **Del Bubba M., Giordani E, Pippucci L., Cincinelli A., Checchini L., Galvan P., (2009).**Changes in tanning, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on- tru growth and ripening and in response to different postharvest treatments. Journal of food composition and analysis, 22- 668- 677.
- **Dewick PM. (1995).**The biosynthesis of shikimate metabolites. Nat. Prod. Rep., 12: 579-607.8.
- **Djeridane A ., Yous M., Nadjemi B ., Boutassouna D ., Strocrer P and Vidal N. (2006).**Antioxdantactivity of sonne algérien médical plants extractscontainingphenolie compound, foodchen, 97,654-660.
- **Evreinof V.A. (1948).** Le ploquemnier du Japon ou kaki. Fruit d'outre- menQ, 124- 132.
- **Farkes V. (1985).** Ultra structural cytology of pathogenic fungi. In: Howard .D.H.(Ed). Fungal protoplasts. Application in biochemistry and genetics.3-30. Marcel Dekker New York.
- **Fennema O.U. (1977).** Perte de vitamins dans les aliments frais et surgelés. Technologie alimentaire, 31 : 32.
- **Fleeger J.L., Flipse. (1964).** Metabolism of bovine semen xii. Malonie acid metabolism by bovine spermatozoa. J. Dairy sci, 47 (s): 3275- 84.
- **Frei B, Higdon JV. Frei B, Higdon JV. (2003)** Antioxdant activity of tea polyphenols *in vivo*: Evidence from animal studies. J. Nutr, 133: 3275-84.
- **Funatoga W., Hayashi S., Shimomur H., Yoshida T., Hatano T., Itoh, Hirai Y.(2004).** Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against. Helicobacter pylorie microbial. Immunol, 48 (4): 351- 61.

- **Gaffney S, Williams V, Flynn P, Carlino R, Mowry C, Dierenfeld E, Babb C, Fan J, Tramontano WA. (2004).** Tannin/polyphenol effects on iron solubilization *in vitro*. *BIOS*, 75(2): 43-52.
- **Galvez J, Crespo J, Jimenez J, Suarez A, Zarzuelo A. (1993).** Antidiarrhoeic activity of quercitin in mice and rats. *J. Pharmacol. a*, 45: 157-9.
- **Galvez J, Zarzuelo A, Crespo J, Lorente MD, Acete MA, Jimenez J. (1993)** Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. *Planta Med. b*, 59: 333-6.
- **Galvez J., Crespo J., Jimenez J., Suarez A., Zuelo A. (1993).**Antidiarrboeic activity of quercitin in mice and rats. *J. Pharmacola*, 45: 157- 9.
- **Gaston Bonnier. (1990).**La Grande flare en couleurs, 4 p740
- **Gedir J .V.,Sporns P., Hudson R.J.(2005).**Extraction of condensed tannins from cervied feed and feces and quantification using a radial diffusion assay. *J. Chem. Ecol*, 31 (12): 276- 73.
- **Gerber m., Berta, Vanrullen I. (2006).**Soja et phyto estrogène. *Arch. Pédiatrie*, 13 (6): 534- 536.
- **Gilani G.S., Cockell K.A., Sepher E. (2005).**Effetcs of antinutritional factors en protein digestibility and amino acids availability in foods. *J. Aoac- int*, 88 (3): 967- 87.
- **Goodarzi M.T., Zal F, Malakooti M., Safari M.R., Sadeghin S.(2006).**Inhibitory activity of flavonoïds on the lens aldoseductase of healthy and diabetic rats. *Acta med. Iran*, 44 (1): 41- 5.
- **GorinsteinS., Zemer M., Hamenkit, Chuthokorn R., Granen F., Mortin-Bellaso., .(1999).**Trakhtenberg S, Comparative content of total poly phenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *Journal of nutritional biochemistry*, 10- 367- 371.
- **Gosse F, Guyot S, Roussi S, Labstein A, Fisher B, Seiler N, Raul F. (2005).** Chemopreventive properties of apple procyanidins of human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a rat model of edon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 26 (7): 1291-5.
- **Griesbach RJ. (1996).** The inheritance of flower color in *Petunia hybrida* vilm. *J. Hered.*, 87 (3): 241-45.
- **Hagerman A.E. (1989).**Chemistry of tannin- protein complexation in chemistry and significance of tannins. In r. W. Hemingway r w, karcchesy j j. *Chemistry and significance of condensed tannins*.ed, plenum press, new york, 323- 33.

- **Harborne J.B., Williams C.A.(2000).** Advances in flavonoïd research since 1992 phytochemistry. Vol, 37: 3- 18.
- **Hargerman A.E., Ried K.M., Dones G.A., SovikK.N., Ritchard N.T., Hartzfeld P.W., Richel T.L.(1998).** High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxydants j. Agric. Food chem, 46: 1887- 92.
- **Hashimoto F, Jamal Uddin AFM, Shimizu K, Sakaba Y.** Multiple allelism in flavonoid hydroxylation in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. Flowers. J. Japan Soc. Hort. Sci.2004, 73 (3): 235-240.
- **Haslam E. (1994).** Natural poly phenols (vegetable tannins): gallie acid metabolism. Nat. Prod, 11: 41- 66.
- **Havsteen B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids pharmacol. Therapeut. 96:67-202.
- **Heller W., Fork Mann G.(1993).** The flavonoïds. Advances in research since 1986,Inharbone J B. Second dary plant producte. Encyclopedia of plant physiology. Ed chapman. Hall, London, 399- 4- 25.
- **Hommava H, Payne J, P Koehler, Eitenmiller R.(1990).** Provitamin a (alpha-carotène,  $\beta$  carotène et  $\beta$  cryptoxanthine) et l'acide ascorbique des kakis japonais et américains.J Food Qual.p 13-85-95.
- **Horn J., Hayes J., Lawless,Turbidity. (2002).** as measure of salivary protein reaction with astringent substances. Chemsenses, 27(7): 653-9.
- **Isono., Kand., suzuki S. (1979).**The polyxins, pyrimidine nucleoside, peptide antibiotics inhibiting fungal cell wall biosynthesis. Heterocycles.13:333-51.
- **Ito S. (1980).** Persimmon in tropical and subtropical fruits. AVI, Westport. cf (Nogy, S. and show, P, eds), 442.
- **Jhonson I. (1999).** Antioxydants et anticancéreux. Biofutur, 186: 14-15.
- **Kamadra A., Boyacioalu D., Guney G. et Ozeelik B.(2004).** Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality nutrition and health\_STREP or CA. European Commision's the 6<sup>th</sup> framework programme for research . Istabul technical university. Turkey.
- **Kandra L., Gyeman G., Zajaez A., Bat G.(2004).**Inhibitouy effects of tannins of human salivary, alpha- amylase biochem. Biuphyse res-commun, 319 (4): 1265- 71.
- **Karali A., Boyacioalu D., Huney G.,Ozcelik B.(2004).**Flavonoïdes in fruit and vegeables: their impact on food quality nutrition and health- strep or ca. European

commission's 6<sup>th</sup> framework programme for research istanbul technical university turkey.

- **Kenny TP, Keen CL, Schmitz HH, Gershwin ME.** Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Exp. Biol. Med.* 2007, 232:293-300.
- **Knockaert G., Sudheer K.P., Lemmen L., Van Buggenhouts., Hendrickx M, VanLoey A.(2012).** Currot  $\beta$ -carotène degradation and isomerization kinetics during thermal processing in presznce of oil. *Journal of agricultural and food chemistry*60, 10312- 10319.
- **Kocicko I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and valdimir-kneg EICS.(2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia-*Acta pharn.* 54:65-72.
- **Komig M, Seholz E, Hartmann R, Lehmann W, Rimpler H. (1994).** Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patroae* bark. *J. Nat. Prodcut.*, 57: 1411-15.
- **Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S., and Valadimir-kneg EICS. (2004).** Quantitative analysis of the flavonoïds in propolis from northern Croatia-*ActaPharn,* 54: 65- 72.
- **Kumar U., Kumar B., Bhandari A., & Kumar Y.(2010).** Phytochemical investigation and comparison of antimicrobiol screening of close and cardamom. *International journal of pharmaceutical Sciences and Research.* 1,138-147.
- **Latte L.P., Kolodziej H.(2000).** Antifungal effect of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. *Naturforsch,* 5 (5- 6): 467- 72.
- **Lemmens L., Tchuenche E.S., VanLory A., Hendrickx M.(2013).** Beta- carotene isomeristion in mango puree as influenced by thermal processing and high- pressure homogenization. *European food research and technology,* 236. 155- 163.
- **Macheix J., Fleuriet A ., Jay-Allemands.(2006).** Les composes phenoliques des vegetaux (un exemple économique). Ed presses poly technologique et universitaires normandes. La voisier, 4- 5.
- **Malasev D., kuntic V.(2007).** Investing of metal. flavonoids chelates and the the determination of flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society.*72(10):921-939.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C, Jiménez L.(2004).** Polyphenols: food sources and biozailability. *Am J Clin Nutr.*79:727-47.

- **Martin S., Andrantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et l'angéiologie*.
- **Martini A, Katerere DR, Eloff JN. (2004).** Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J. Ethnopharmacol.*, 93 (2-3): 207-12.
- **Masood Sadiq Butt, M. Tauseef Sultan, Muhammad Imran.(2008).** Substances phytochimiques caches et allégations de santé.
- **Melendez-Martinez A.J.,Brittong.,VicarioI.M.,Heredia F.J.(2007).**Relationship between the colour and the chemical structure of caroténoïds pigments. *Food chemistry*, 101- 1145- 1150.
- **Memento De l'agronome.(2002).** Les plantes comestibles. Ministre des affaires Etrangères Paris, 1015.
- **Montagnac.P., (1960),** Culture fruitières de madagascar, tome I, Institut de recherches agronomiques à madagascar, document numéro 9, p 146.
- **NF V 05-108, (1997).**
- **NF V 05-113, (1972).** Détermination des cendres totales. Vol 49, n°4,289-298.
- **Nicholson G., Mottet .S. (1893- 1984).** Dictionnaire pratique d'horticulture et de Jardinage.
- **Nicoletia J.F., Silveiro-Jro V., Telis- Romero J.,Telis V R N.(2005).** Viscoclastic behavior of persimmons dried at constant air temperature. *Lebensm- wiss. U- technol*, 38. 145- 150.
- **Nijveldt R. J., van Nood E., van Hoorn D. E., Boelens P. G., van Norren K. and van Leeuwen P. A.( 2006).** Flavonoids a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American J. Clinic. Nutr.*; 74: 418-425.
- **Notomo H., Ligo M., Hamada H., Koji mas.,Isuda H.(2004).** Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed pro anthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis. *Nutr. Cancer*, 49(1): 81-8.
- **Ono E-Hatayama M., Isono Y., Sato T., Watanabe R .,Yonekura- Sakakibara K., Fukuchi- Mizutani M., Tanaka Y., Kusumi T., Nishino T., Nakayama.(2006).**localisation of a flavonoïd biosynthetic poly phenol oxidase in vacuoles. *Plant j*, 45: 133- 43.

## Références bibliographiques

---

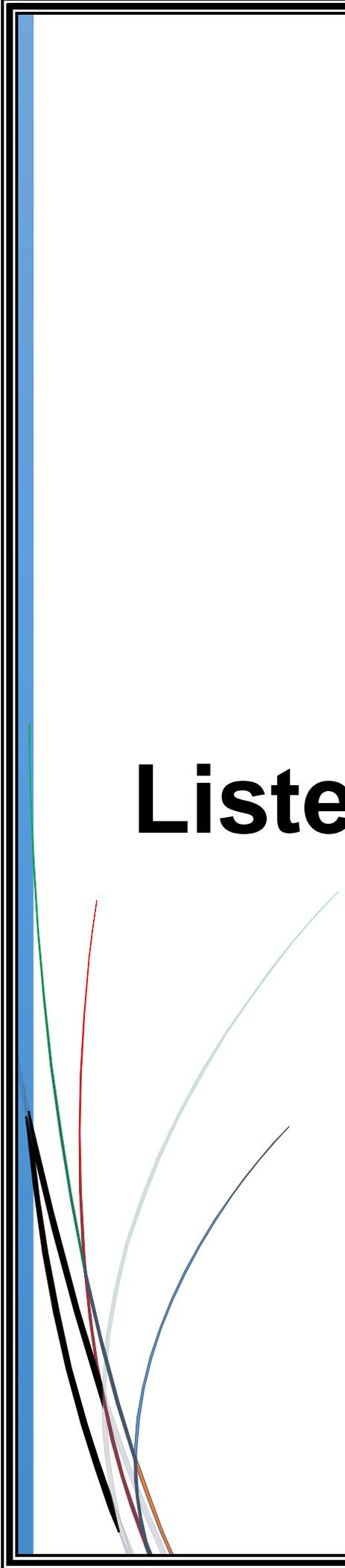
- **Oszmianski J, Wojdylo A, Lamer-Zarawska E, Swiader K.( 2007).** Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. Food Chem. 100 (2): 579-83.
- **Ouali K, Trea F, Toumi L, Bairi A, Maurel D, Guellati MA.** L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental. Phytothér. 2007, 5 (4): 204-9.
- **peels polyphenol against high glucose-induced oxidative stress in LLC-PK1 cells.** Food chem. Toxicol, 45:1979- 87.
- **Perrier, H., (1952).** Flores de Madagascar, 165<sup>ème</sup> famille, p 136.
- **Pietta P.G.(2002).** flavonoïds as antioxydants. J nat. Prod, 63 (7), 1035- 42.
- **Piquemol G.(2008).** Les flavonoides(enligne):<http://www.detoursante.com/index.php>. Option : com, content et view : article et id : 166 et Item 15.
- **Ponce A.G.,Frity R., Delvalle C.,Roura S.I. (2003).** Antimicrobiol activity of essential oils on the native of organic Suisse chard. Lebensmittelwissenschaftundtechnologie, 36, 679- 684.
- **Rein D, Paglieroni T.G.,Wunt, pearson D.A., Schmitz H.H., Gosselin R., keen. (2000).** Cocoa inhibits platelets activation and function, an. J. Clin Nutr, 72: 30- 5.
- **Richter G. (1993)** Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed. Presses Polytechniqueset Universitaire Romandes, 322-323.
- **Rivera S.M., Canela- Garayoa R. (2012).** Analytical tools for the analysis of caroténoïdes in diverse materials. Journal of chromatography a, 1224. 1- 10.
- **Rodriguez-Amaya D.B., Kimura., M.(2004).** Harvest plus handbook, for caroténoïds analysis. Harvest plus technical monograph 2. Washington. Dc. Cali: international food policy research institute (fpr) and international center for tropical agriculture (ciat).
- **Ruggiero P, Tombola F, Rossi G, Pancotto L, Lauretti L, Del Giudice G, Zoratti M. (2006).** Polyphenols reduce gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection or VacA toxin administration in mice. Antimicrob. Agents Chemother. 50 (7): 2550-52.
- **Sarni-Manchado p., Cheynier V.(2006).** Les polyphenols en agroalimentaire, Ed.Lavoisier(Tec et Doc).Paris.300-398.
- **Seyom A., Asres K., EL Fiky F.k.(2006).** Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. Journal of phytochemistry.67 :2058-2070.

- **Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R., Lamuela-Raventos R.M.(1999).** Anlysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Method. Enzymol*, 299, 152- 17.
- **Srivastava R.C., Husain M.M., Hason SKM.(2000).** Green tea poly phenols and tannins acid actas potent inhibitors of phorbol ester- induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer let*, 153 (1- 2): 1- 5.
- **Suzuki, K., Ishii, J., Kitagawa, F., Kuno, A., Kusuhara, Y., Ochiai, J., Ichino, N., Osakabe, K., Sugimoto, K., 622 Yamada, H., Ito, Y., Hamajima, N., & Inoue, T. (2005).** Association of Serum Carotenoid Levels 623 With N-Terminal Pro-Brain-Type Natriuretic Peptide: A Cross-Sectional Study in Japan. *Journal of 624 Epidemiology*, 23(3), 163-168.
- **Tawaha K ., Alali F Q .,Charaibeh M., Mohammad and El- Elimt T .(2007).**Antioxidantactivity and total phenolec content of selectedjordannian plant spacies. *Food chen*.
- **TelisV.R.N.,GobosA.L.,MenegolliF.C.,TelisRobero.J.(2000).**Wotersoptionthermod ynomie properties applied to persimmon skin and pulp. *ThermochimicoActo*, 343- 49- 56.
- **Tenino J.,Ortiz L., Centeno C.(1992).** Effect of tannins from faba beans (viciafaba ) on the digestion of starch by growingchiks. *Anim. Feed sci- technol*, 37 (3-4): 345- 9.
- **Thang XY, Tanaka T, Betsumiya Y, Kusano R. (2002).**Association of tannins and relatedpolyphenols with the peptide gramicidins. *Chem. Pharm. Bull.* 50 (2): 258-62.
- **Timmer T., CordesseR. (1996).** Influence des aliments des ruminants. *Prod. Anim*, 9 (3) : 167- 79.Tome II, Paris, 767.
- **Wu P-W,Hwang LS.(2002).** Determination of soluble persimmon tannin by high performance gel permeation chromatography. *Food Res Int.* 35:497-506.
- **Yamagishi M., Matsumoto S.,Nakatsuka A, Itamura H.(2005).** Identification of persimmon (Diospyros) cultivars and phenetic relationships between diospyros species by more effective RAPD analysis- *scientia horticulture*.
- **Yamanaka N., Samu O., Nagao. (1996).**Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate  $cu^{+2}$  induced low dencity lipoprotein oxydationin propagation phase. *Febs let*, 401: 230

## Références bibliographiques

---

- **Yokozawa T., Kim H.Y., Lee Ya, Nonaka G.(2007).** Protective effect of persimmon peels polyphenol against high glucose-induced oxidative stress in LLC-PK1 cells. Food chem. Toxicol, 45:1979- 87.
- **Yokozawa T., Kim H.Y., Lee Ya, Nonaka G.(2007).** Protective effect of persimmon
- **Zimmer Z., Cordesse R. (1996).** influence des tannins des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. Prod.Anim 90(3) : 167-79.
- **Zuang H.(1988).** Nouvelles espèces fruitiers n°12. Edition centre Technique Interprofessionnel des fruitset légumes, 105-



# Liste des annexes

## Annexe 1

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

Appareillage, Verrerie de laboratoire	Solvant	Milieu de culture
-Balance de précision 0.001g (KERN 770)	-Acide chlorhydrique	-Muller Hinton(MH).
-Bain marie, Etuve(MEMMERT)	-Ammoniaque	-PDA.
-Four à moufle (NABERTHERM)	-Acétate de sodium	
-PH-Mètre(INOLAB)	-Acide gallique	
-Plaque chauffante(RYPA)	-Acide sulfurique	
-Rotavapeur(STUART)	-Acétate de plomb	
-Spectrophotomètre visible (EV 9200)	-Chloroforme	
-Réfrigérateur, béchers, burettes, fiole, ampoule à décanter, entonnoir, flacons, pipette gradée, Pipette pasteur, cristallisoirs, éprouvettes, tubes à essai....ect)	-Carbonate de sodium	
-creusets en porcelaine	-Carbonate de sodium	
Mortier, pilon, verre de montre, papiers filtres, spatule, cuves.	-Eau distillée	
	-Bleue de méthylène	
	-Méthanol	
	-Magnésium	
	-Sulfate d'aluminium	
	-sulfate de sodium anhydre	
	-Réactif de dragendroff	
	-Réactif du folin-ciocalteu	
	-Sulfate de cuivre	
Appareillages utilisées pour l'activité antimicrobienne	<b>Matériels</b>	<b>Solution</b>
-Autoclave de paille (WEBECO)	-Anse de platine, bec bunsen,	-Eau distillée
-Bain marie(MEMMERT)	Boîtes de pétri, cuves, disques stériles(papier Wattmann),	-Eau physiologique stérile(9 g/l)
-Etuve bactériologiques(MEMMERT) :	écouvillons, embouts en	-Eau de javel
Etuve 37°C et Etuve 28°C	plastiques stériles, micropipettes,	
-Spectrophotomètre visible (MEDLINE)	pince, pipette pasteur, portoir pour tubes, tubes a essai.	
-Réfrigérateur		

## Annexe 2

## 1. Préparation de la gamme d'étalonnage des polyphénols

Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard.

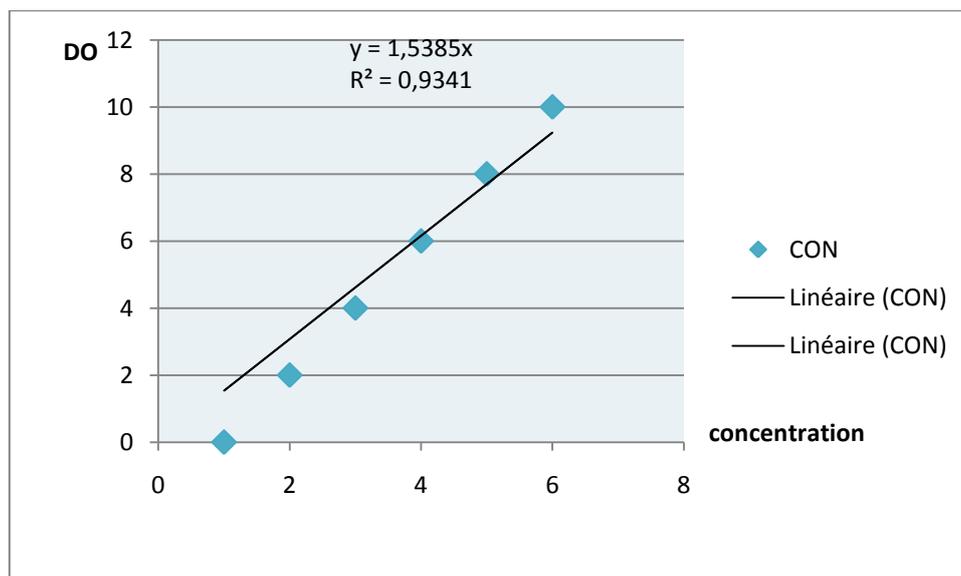
- Préparation de la solution d'acide gallique

Dissoudre 0.5g d'acide gallique dans 100ml d'eau distille. Soit une solution mère (SM) avec une concentration de 0.5mg/ml.

Il faut diluer la solution obtenue. Prendre 1ml de la SM et la mettre dans 9ml d'eau distillée pour avoir  $10^{-1}$ . A partir de la  $10^{-1}$  refaire la même chose pour obtenir  $10^{-2}$ . c'est cette solution qu'on va utiliser dans notre gamme.

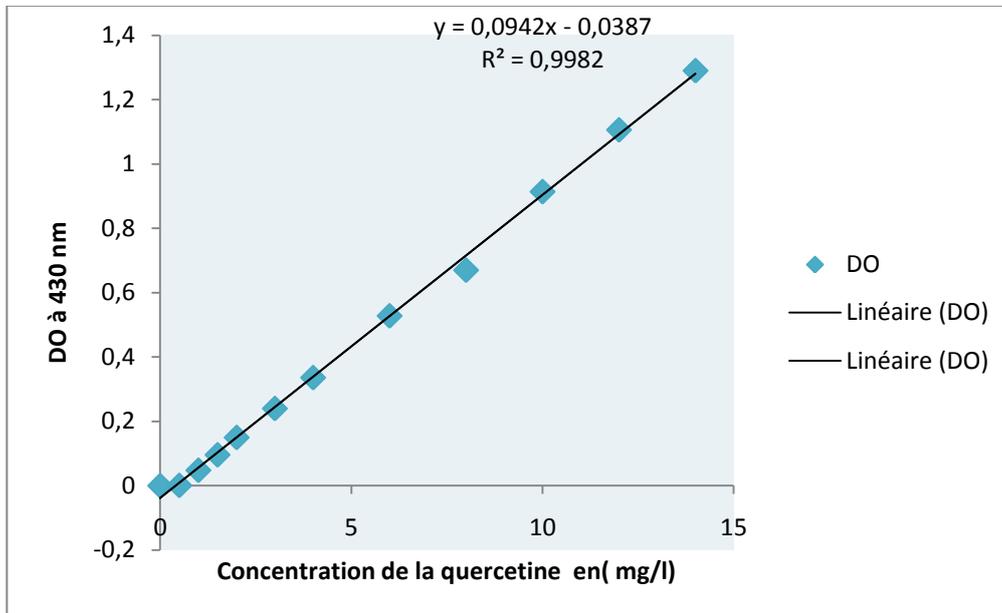
Tubes	Blanc	1	2	3	4	5
Concentration	0	2	4	6	8	10
Acide gallique (µl)	0	400	800	1200	1600	2000
Eau distillée (µl)	2000	1600	1200	800	400	0

1. Remplir les tubes avec (l'eau distillée+acide gallique) selon les quantités mentionnées dans le tableau ci-dessus.
2. Ajouter a tous les tubes 50ul du réactif folin-ciacolteu, et ce a l'abri de la lumière.
3. Homogénéiser au vortex
4. Laisser agir pendant 5mn.
5. Ajouter 500 ml de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20%).
6. Incuber à l'ombre à la température ambiante pendant 1 heure. L'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc (acide gallique sans extrait).



## 2. Préparation de la gamme d'étalonnage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' $\text{AlCl}_3$  en utilisant comme standard la quercétine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg EQ/g d'extrait.



### Annexe 3

- **Préparation les milieux de cultures utilisées 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. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Mélanger 5.5mlH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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.

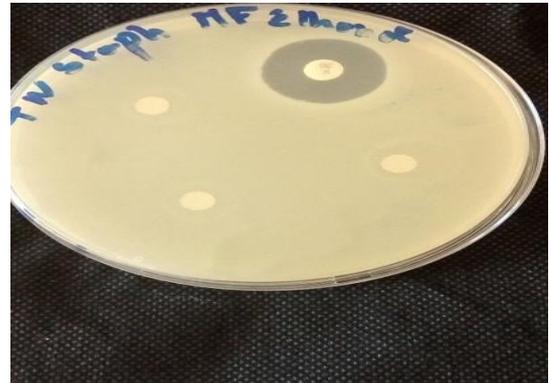
**Annexe 4**

Les zones d'inhibitions des différentes souches testées

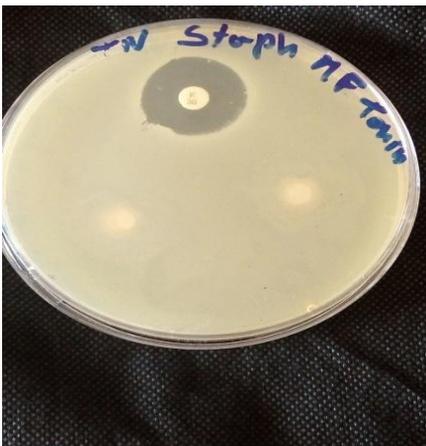
**Staphylococcus aureus**



**Extrait aqueux MF**



**Extrait ethanolic MF**



**Tannins matière fraîche**



**Tannins de la poudre**

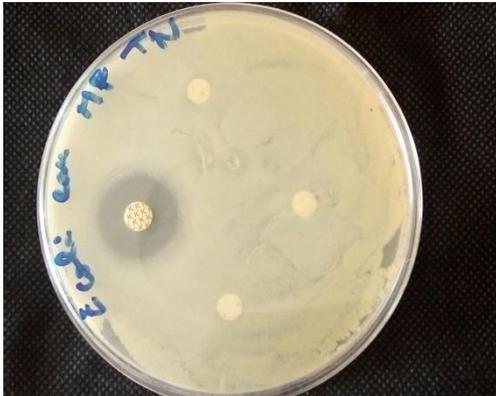


**Extrait aqueux de la poudre**

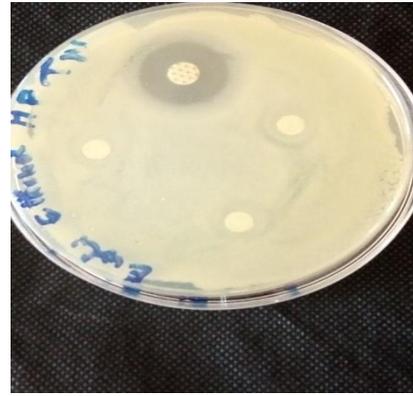


**Extrait ethanolic de la poudre**

*Escherichia coli*



Extrait aqueux de la MF



Extrait ethanolique de la MF



Extrait aqueux de la poudre



Extrait ethanolique de la poudre



Tannins MF

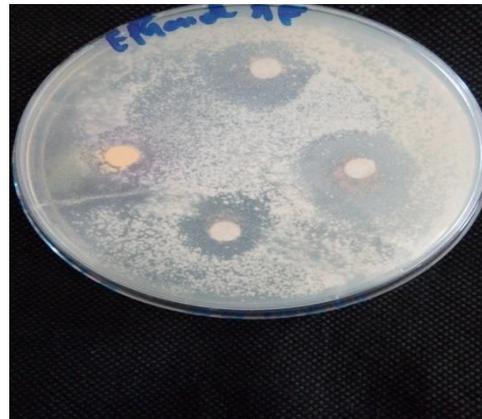


Tannins poudre

*Candida albicans*



**Extrait aqueux MF**



**Extrait ethanolic MF**



**Extrait aqueux de la poudre**



**Extrait ethanolic de la poudre**



**Tannins poudre**



**Tannins MF**

## Résumé

Cette étude avait pour objectif d'étudier quelques propriétés physicochimiques, rhéologiques et biologiques de fruit de *Diospyros kaki* L.

Les résultats de screening phytochimique révèlent que ce fruit est riche en métabolites secondaires ( tannins, tannins gallique, glucoside et flavonoïdes) et en vitamine C.

Les analyses de la caractérisation physico-chimique de la matière fraîche démontrent que ce fruit est riche en eaux avec une teneur de  $78,05 \pm 0,75\%$  et en sodium, calcium et magnésium.

L'extraction et le dosage des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins) montrent que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction des ces composés.

L'analyse granulométrique révèle que la poudre de fruit séché à  $40^{\circ}\text{C}$  possède un grain de taille de  $386,75\mu\text{m}$  de propriété pharmacodynamique très intéressante de point d vue de compactage et d'écoulement.

Les résultats de l'activité antimicrobienne réalisés sur la poudre et la matière fraîche de fruit montrent que les extraits éthanoliques et les tannins ont une activité plus imporante que les extraits aqueux vis-à-vis les souches testées.

## Abstract

The aim of this study was to study some physicochemical, rheological and biological properties of *Diospyros kaki* L. fruit.

The results of phytochemical screening reveal that this fruit is rich in secondary metabolites (tannins, gallic tannins, glucoside and flavonoids) and vitamin C.

Analyzes of the physico-chemical characterization of the fresh material demonstrate that this fruit is rich in water with a content of  $78.05 \pm 0.75\%$  and sodium, calcium and magnesium.

Extraction and determination of phenolic compounds (polyphenols, flavonoids and tannins) show that ethanol is the best solvent for extraction of these compounds.

The particle size analysis reveals that the fruit powder dried at  $40^{\circ}\text{C}$ . has a particle size of  $386.75\mu\text{m}$  of pharmacodynamic property which is very interesting from the point of view of compaction and flow.

The results of the antimicrobial activity on the powder and the fresh fruit material show that the ethanolic extracts and the tannins have a more important activity than the aqueous extracts vis-à-vis the strains tested.