

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ahmed DRAÏA – Adrar

Code :



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département d'Hydrocarbures et Energies Renouvelables

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie chimique

Thème :

**Fractionnement de l'extrait brut de l'amande de *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile, avec des solvants de polarité croissante :
détermination de la composition poly phénolique et évaluation du
pouvoir antioxydant**

Rédigé par :

M^{me}. BENDOUBBA Meriem

Membres du jury:

M^r DAHOU Mohammed Amine	Président	MCB	Univ. Adrar
M^r NANI Abdelhafid	Encadrant	MCA	Univ. Adrar
M^{me} BAHIANI Malika	Co-encadrant	Attachée de recherche	URER/MS
M^r BOUFENAYA Hamza	Examineur	Attaché de recherche	URER/MS

Année Universitaire : 2021/2022



شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة): خاني عبد الحفيظ

المشرف مذكرة الماستر الموسومة بـ: Fractionnement de l'extrait brut de l'amande des Balanites aegyptiaca avec des solvants de Polarité croissante; Détermination de la composition polyphénolique et évaluation du pouvoir antioxydant.

من إنجاز الطالب(ة): بن دوية مر.م

و الطالب(ة):

كلية: علوم وتكنولوجيا

القسم: المحروقات والطاقات المتجددة

التخصص: هندسة كيميائية

تاريخ تقييم / مناقشة: 27 - 06 - 2022

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / المناقشة، وان المطابقة بين
النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.
وإمكانهم إيداع النسخ الورقية (02) والايكترونية (PDF).

- امضاء المشرف:

ادرار في: 04 - 08 - 2022

مساعد رئيس القسم:



Dr. NANI Abdelhafid
HDR en Sciences Alimentaires
Maître de Conférences à l'Université d'Adrar



DEDICACE

Je dédie le fruit de cet effort à ma famille, notamment :

A celle ma comblé d'amour d'affection et d'encouragement pour que je devienne que je suis aujourd'hui. Merci mes chères parents « Tayeb & Aïcha ».

J'adresse mes dédicaces à mon cher époux, «BOUALLALA Omar ».

Mes chères enfants « Ahmed », « Nour Elimane » et « Fatima Zahraa ».

À mes frères, Walid, Mohammed, Mansour, Souleymane qui ont toujours été présente pour moi.

A mes sœurs ahlam et hanaa qui mon toujours soutenus.

A tous mes amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.

A toute la promotion 2^{ème} Master Génie Chimique.

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Meriem



Remerciements

Avec l'aide de dieu tout puissant, j'ai pu achever ce travail, il me tient à cœur de remercier tous ceux qui y ont contribué de près ou de loin.

*C'est un grand plaisir d'exprimer toute ma gratitude à mon promoteur **Dr NANI A.**, Maître de conférences classe « A » à l'Université Africaine d'Adrar, de qui a encadré ce travail depuis les premiers instants. Sa pédagogie, son écoute, son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique, ont été aussi importantes pour moi que ses connaissances éclectiques et ont largement contribué à l'évolution de ce projet.*

*Que notre Co-promoteur, **Mme BAHIANI M.**, Attachée de Recherche à l'URER/MS d'Adrar, Soit assurée de nos profondes gratitudee pour sa précieuse collaboration, ses critiques constructives et ses encouragements.*

Je remercie les membres de jury le président, l'examineur, pour m'avoir fait l'honneur de présider et examiner ce jury. Aussi, je ne oublié pas de la remercier pour ses conseils judicieux tout au long de notre parcours universitaire.

*Je remercie chaleureusement, **Melle MESSIHEDDINE M.** étudiante 2 année master SNV à l'université Africaine d'Adrar, pour son soutien depuis les premiers instants, et pour mon fait profiter de ses connaissances et de leurs encouragements et l'aide précieuse qu'il me transmet.*

*Un grand merci à **Melle BALLA N., MELLE KALLOUM F., MELLE OTEMANI A.**, étudiantes 2 année master SNV à l'université Africaine d'Adrar, pour Leurs disponibilité à ma aider et leurs gentillesse tout au long de l'élaboration de ce mémoire.*

Un grand merci de toutes mes amies pour leurs soutiens et leurs encouragements et leurs sympathies.

Un simple merci ne serait pas suffisant pour exprimer ce que je dois à toutes les personnes qui m'ont considéré comme un amie et à qui je leur dois une grande vénération.

Résumés

الملخص

الهلج هي شجرة تنمو بشكل أساسي في دول الساحل الأفريقي حيث يتم تقديرها بفضل اهتماماتها الغذائية واستخداماتها الطبية. في سياق تقييم هذه الأنواع الشجرية، تقوم هذه الدراسة في المرة الأولى، بتحديد المركبات الفينولية للهلج بعد استخراج سائل صلب في الميثانول المائي، تليها سلسلة من الاستخراجات السائلة لخمسة أجزاء، هكسان، كلوروفورم، أسيتات الإيثيل، وقمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار دي بي بي اش وتبلغ كفاءة استخراج الهكسان والكلوروفورم وأسيتات الإيثيل والبيوتانول والبوتانول والكسور المائية 1.05 و 1.30 و 1.05 و 5.77 و 5.24 في المائة على التوالي. يبلغ إجمالي البوليفينول 0.086 و 0.136 و 0.151 و 0.149 و 0.115 ملغ EAG/g MS على التوالي. مستويات الفلافونويد هي 0.007، 0.006، 0.02، 0.03، 0.001 ملغ EC/g MS، على التوالي. محتويات العفص المكثف هي 0.036 و 0.034 و 0.029 و 0.012 و 0.017 ملغ EC/g MS على التوالي. أظهر النشاط المضاد للاكسدة على أن جزء أسيتات الإيثيل هي الأقوى ب 0,38 ملغم/مل، يليه جزء البيوتانول ب ملغم/مل 0.39 وهو ما يتوافق مع المستويات العالية من إجمالي البوليفينول والفلافونويد في هذين الكسرين .

الكلمات المفتاحية: الهلج التجزئة البوليفينول الطاقة المضادة للاكسدة

Résumé

Le *Balanites aegyptiaca* est un arbre qui pousse principalement dans les pays de l'Afrique saharo-sahélienne où il est apprécié grâce à ses intérêts nutritionnels et ses utilisations médicinales. Dans un contexte de valorisation de cette espèce arboricole, cette présente étude consiste dans un premier temps, à quantifier les composés phénoliques des amandes de *Balanites aegyptiaca* après une extraction solide-liquide dans un mélange hydro-méthanolique, suivie d'une série d'extractions liquide-liquide de cinq fractions, hexane, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et la fraction Aqueuse. Et d'évaluer l'activité antioxydante par le test au DPPH. Le rendement d'extraction des fractions de l'hexane, du chloroforme, d'acétate d'éthyle, du n-butanol et la fraction aqueuse, sont de 1,05, 1,30, 1,05, 5,77, 5,24% respectivement. Les teneurs des polyphénols totaux sont de 0.086, 0.136, 0.151, 0.149 et 0.115 mg EAG/g MS respectivement. Les teneurs des flavonoïdes sont respectivement de 0.007, 0.006, 0.02, 0.03 et 0.001 mg EC/g MS. Les teneurs des tanins condensés sont respectivement 0.036, 0.034, 0.029, 0.012 et 0.017 mg EC/g MS. L'activité antioxydante exprimée en EC_{50} des cinq fractions est de 0.43, 0.41, 0.38, 0.39, 0.45, 0.013 et 0.04 mg/mL respectivement. Les fractions acétate d'éthyle et n-butanol ont les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les fractions de chloroforme et d'hexane ont les teneurs les plus élevées en tanins condensés. L'activité antioxydante exprimée en EC_{50} , a démontré que la fraction d'acétate d'éthyle est la plus puissante de 0,38 mg/ml suivie de la fraction n-butanol avec un EC_{50} de 0.39 mg/mL ce qui concorde avec des teneurs élevées de polyphénols totaux et flavonoïdes dans ces deux fractions.

Mots clés : *Balanites aegyptiaca*, fractionnement, polyphénols, pouvoir antioxydant.

Abstract

Balanites aegyptiaca is a tree that grows mainly in the Sahel-African countries where it is appreciated thanks to its nutritional interests and medicinal uses. In a context of valorization of this arboreal species, this study consists in a first time, to quantify the phenolic compounds of the almonds of *Balanites aegyptiaca* after a solid-liquid extraction in a hydro-methanol, followed by a series of liquid-liquid extractions of five fractions, hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol and the aqueous fraction. And evaluate the antioxidant activity by the DPPH test. The extraction efficiency of the hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol and aqueous fractions are 1.05, 1.30, 1.05, 5.77, 5.24% respectively. The total polyphenols are 0.086, 0.136, 0.151, 0.149 and 0.115 mg EAG/g MS respectively. The levels of flavonoids are 0.007, 0.006, 0.02, 0.03 and 0.001 mg EC/g MS, respectively. The contents of the condensed tannins are 0.036, 0.034, 0.029, 0.012 and 0.017 mg EC/g MS respectively. The antioxidant activity expressed as EC₅₀ of the five fractions is 0.43, 0.41, 0.38, 0.39, 0.45, 0.013 and 0.04 mg/mL respectively. The ethyl acetate and n-butanol fractions have the highest levels of total polyphenols and flavonoids. The chloroform and hexane fractions have the highest levels of condensed tannins. The antioxidant activity expressed as EC₅₀, showed that the ethyl acetate fraction is the most powerful of 0.38 mg/ml followed by the n-butanol fraction with an EC₅₀ of 0.39 mg/mL, which is consistent with high levels of total polyphenols and flavonoids in these two fractions.

Keywords: *Balanites aegyptiaca*, fractionation, polyphenols, antioxidant power.

Liste des abréviations

Abs: absorbance.

ADN: l'acide désoxyribonucléique.

DPPH •: diphénylpicrylhydrazyl forme radicalaire,

ERO: espèce réactive d'oxygène.

MS: matière sèche.

MeOH: méthanol.

µg EAG/g MS : microgramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

µg EC/g MS : microgramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche. .

mg/mL : milligramme par millilitre.

R. : radical libre.

UV-Vis: ultra-violet visible.

T : Température.

% : pourcentage.

°C : degré Celsius. **µ :** micro.

µL: microlitre.

h : heure.

min: minutes.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

Cu : cuivre.

Fe₂: fer.

Kcal: kilo calories

Table des Matières

Dédicace	I
Remerciements	II
Résumés Arabe/ Français/Anglais	III/ IV/V
Liste des abréviations	VI
Table des matières	VII
Liste des tableaux	VIII
Liste des figures	IX
Introduction	1
Partie I : synthèse bibliographique	
Chapitre 1 : Le pouvoir antioxydant & les polyphénols	
1.1. Types des espèces réactives d'oxygène	3
1.1.1. Selon structure chimique	3
1.1.2. Selon l'origine de production	3
1.1.2.1. Production endogène	3
1.1.2.2. Production sous l'effet des facteurs exogènes	3
1.2. Stress oxydatif	4
1.3. Les antioxydants	4
1.3.1. Types d'antioxydants	4
1.3.1.1. Les antioxydants Endogènes	5
1.3.1.2. Les antioxydants exogènes	5
1.3. Généralités sur les polyphénols	6
1.4. Classification des polyphénols	6
1.4.1. Acides phénoliques	6

1.5. Les tanins	9
1.6. Les stilbènes	9
1.7. Les Lignanes	9
1.8. Rôle des polyphénols	10
1.8.1. Chez les plantes	10
1.8.2. Chez l’homme et l’animal	10
Chapitre 2 : généralités sur les techniques d’extraction	
2. 1. Infusion	11
2. 2. Décoction	11
2. 3. Macération	12
2. 4. Soxhelt	13
2. 5. Extraction par fluide supercritique	14
2. 6. Extraction assisté par ultrasons	15
2. 7. Extraction par micro-ondes	16
Chapitre 3 : Le dattier du désert, <i>Balanites aegyptiaca</i>	
3.1. Généralités sur le dattier du désert	18
3. 2. Description Botanique du <i>Balanites aegyptiaca</i>	19
3. 2.1. Description des fruits et des graines	19
3. 3. Ecologie et distribution de l'espèce <i>Balanites aegyptiaca</i>	20
3. 4. Composition biochimique et valeur nutritive du fruit de <i>Balanites</i>	20
3. 5. Usage alimentaire et intérêt médicinale de dattier du désert	21
3. 5 .1. Usage alimentaire humain	21
3. 5.2. Usage alimentaire animale	22
3. 5.3. Utilisations médicinales	22
3.6. Activités biologiques <i>Balanites aegyptiaca</i> in vitro	24

Partie II : partie expérimentale**Chapitre 4 : Matériels et Méthodes**

4. 1. Matériel végétal	25
4.1.1. Détermination du taux d'humidité	25
4.2. Extraction des composés phénoliques	26
4.2.2. Extraction solide-liquide	27
4.2.2. Extraction liquide-liquide	29
4.3. Rendement d'extraction	30
4.4 .Détermination des polyphénols totaux	30
4.5. Détermination des flavonoïdes	32
4.6. Détermination des tanins condensés	33
4.7. Mesure du pouvoir antioxydant au test du DPPH•	35
4.8. Détermination des EC ₅₀	37
4.9. Cinétique de réduction du radical libre de DPPH•	38

Chapitre V : Résultats et discussion

5.1. Taux d'humidité	39
5.2. Rendements des extractions	39
5.3. Teneurs en polyphénols totaux	40
5. 4. Teneurs en flavonoïdes	41
5.5. Teneurs en tanins condensés	42
5.6. Pouvoir antioxydant : test au DPPH anti radicalaire	45
Conclusion et perspectives	49
Références bibliographique	50

Liste des tableaux

Tableau 1	Les flavonoïdes et leurs sources naturelles	8
Tableau 2	Valeur nutritionnelle de la pulpe en % de matière sèche	20
Tableau 3	Composition en % biochimique de l'amande <i>Balanites</i>	21
Tableau 4	Utilisations médicinales et pharmacologiques humaines de <i>Balanites aegyptiaca</i> (L.)	23
Tableau 5	Rendement en % d'extraction de l'extrait brut et les cinq fractions de l'amande de <i>Balanites aegyptiaca</i>	39

Liste des figures

Figure1 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants	4
Figure 2 : Structure d'un cycle phénolique	6
Figure4 : Structure de base des acides hydroxybenzoïques	7
Figure 5 : Structure de l'enchaînement 2-phényl chromane (flavane)	8
Figure 6 : Structure de base des acides hydroxycinnamiques	9
Figure 7 : Structure du trans-resvératrol	10
Figure8 : Les techniques d'extraction (Infusion et Décoction)	11
Figure 9 : Macération	12
Figure10 : Schéma de l'appareillage d'extraction au Soxhlet	13
Figure 11 : Extraction par fluide supercritique	14
Figure12 : Extraction assisté par ultrasons	15
Figure13 : Spectre électromagnétique	16
Figure 14 : Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et micro-ondes	17
Figure 15 : <i>Balanites aegyptiaca</i>	18
Figure 16 : Schéma du fruit de <i>B. aegyptiaca</i>	19
Figure 17 : Fruits (A) ; graines (B), amande (C) ; et poudre des amandes (D) de <i>Balanites aegyptiaca</i>	25
Figure 18 : Pesée de l'échantillon (a), échantillons dans un dessiccateur (b), étuve iso- therme (c)	26

Figure 19 : Schéma du protocole d'extraction des polyphénols totaux suivie d'extraction liquide-liquide	28
Figure 20 : Pesée de l'échantillon(a), macération de l'échantillon sous agitation continue (b).	29
Figure 21 : Filtration de l'extrait par centrifugation(a), les trois filtrats obtenus (b)	29
Figure 22 : Les étapes de fractionnement de la phase hydro-alcoolique dans des solvants polaires et apolaires	30
Figure 23 : Gamme d'étalonnage des polyphénols totaux	31
Figure 24 : Gamme d'étalonnage des flavonoïdes	33
Figure 25 : Gamme d'étalonnage des tanins condensés.	35
Figure 26 : Réaction de réduction du DPPH• par les antioxydants	36
Figure 27 : Evaluation du pouvoir antioxydant dans l'extrait,(a)phase hexane,(b)phase Acétate d'éthyle,(c)phase Chloroforme,(d)phase n-butanol,(e)phase Aqueuse	37
Figure 28 : Proportions d'humidité et de matière sèche du <i>Balanites aegyptiaca</i>	38
Figure 29 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux	39
Figure 30 : Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	40
Figure 31 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes	41

Figure 32 : Teneurs en flavonoïdes (mg EC/g MS)	42
Figure 33 : Courbe d'étalonnage des tanins condensés	43
Figure 34 : Teneurs en tanins condensés (mg EC/g MS)	43
Figure 35 : Valeurs d'EC ₅₀ (en mg/ml) des fractions étudiées et des antioxydants de référence	45
Figure 36 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• des fractions des cinq fractions de l'amande de Balanites.	46
Figure 37 : Cinétique de réduction du radical libre de DPPH•	46

Introduction

Introduction

Le déséquilibre d'origine endogène et/ou exogène entre les mécanismes de défense antioxydante et la production des espèces réactifs d'oxygène (EROs) dans l'organisme vivante peut engendrer un **stress oxydatif** à courte durée ou aussi bien prolongé avec des conséquences graves (**Sies *et al.*, 1991 ; Favier, 2003**).

Les plantes sont riches **en antioxydants** naturels dont les polyphénols en sont les antioxydants les plus abondants. D'après plusieurs études ces polyphénols ont de maintes propriétés biologiques à savoir : **antioxydantes**, antimicrobiennes, antiinflammatoires, anticancéreuses, etc. (**Nkhili, 2009 ; Nani, 2017 ; Ghanemi *et al.*, 2017 ; Zeriouh *et al.*, 2017 ; Aboura *et al.*, 2017 ; Nani *et al.*, 2019**).

Ces 25 dernières années, ont connu un développement dans la recherche axée sur l'extraction, l'identification et la quantification des composés phénoliques à des fins médicinales et/ou alimentaires. Les étapes importantes pour l'analyse des composés phénoliques sont la préparation et **l'extraction des échantillons, la quantification par spectrophotométrie**, chromatographie en phase gazeuse (GC), chromatographie liquide haute performance (HPLC) ou l'électrophorèse capillaire (CE). Les techniques les plus courantes d'extraction des composés phénoliques utilisent des solvants, organiques ou inorganiques (**Khoddami *et al.*, 2013**). Beaucoup récemment, le domaine de l'extraction est entré dans sa révolution « verte », en opérant une mutation vers l'« éco-extraction du végétal », basée sur la découverte et la conception de procédés d'extraction permettant de réduire la consommation énergétique, mais aussi l'utilisation de solvants alternatifs et des ressources végétales renouvelables, tout en assurant la qualité et la sécurité des produits finis envers les opérateurs, les consommateurs et notre environnement », (**Chemmat *et al.*, 2018**)

L'Atlas de l'Algérie se compose essentiellement de trois grandes bandes longitudinales à savoir : le Tell ou Atlas Tellien, la région des hauts-plateaux ou les steppes, L'Atlas Saharien et la pente Sud du plateau. Cette géographie hétéroclite est à l'origine d'une diversité floristique innombrable. L'Atlas Saharien et la pente Sud du plateau sont connus par leur biodiversité végétale dont plusieurs espèces sont bien adaptées aux bioclimats de cette bande (**Makhloufi, 2008**). De nombreuses plantes de cette bande sont traditionnellement utilisées dans la phytothérapie. C'est le cas du « dattier du désert », *Balanites aegyptiaca*, qui présente un intérêt croissant du fait de son potentiel pharmacologique et ses nombreuses utilisations médicinales

dans les pays de l'Afrique saharosahélienne ainsi au Sud de l'Algérie (**Chevallier et al., 2004 ; Sagna et al., 2014**).

Des études ont rapporté *Balanites aegyptiaca* a des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Speroni et al., 2005**), antihypertenseurs (**Moustapha et al., 2014**), antidiabétiques (**Fortin et al., 1997**), anti-infectieuses (**Chevalier et al., 2003**), anticancéreuses , antidiabétiques, antimicrobiennes, hépatoprotectrices (**Murthy et al., 2020**).

Cette présente étude consiste dans un premier temps, à quantifier les composés phénoliques des amandes de *Balanites aegyptiaca* après une extraction **solide-liquide**, dans un mélange hydro-méthanolique, suivie d'une série d'extractions **liquide-liquide** dans différents solvants polaires et apolaires. Et d'évaluer dans un deuxième temps, le **pouvoir antioxydant** des cinq fractions obtenues, par la méthode au DPPH.

Dans l'ensemble, notre travail se divise en trois parties distinctes :

1. Une partie bibliographique comprenant :
 - ✓ Les polyphénols et leurs pouvoirs antioxydants ;
 - ✓ Les différentes méthodes d'extractions des métabolites secondaires ;
 - ✓ Généralités sur le « dattier du désert », le *Balanites aegyptiaca*.
2. Une partie expérimentale décrivant le matériel et les méthodes utilisés ;
3. Une partie comprenant les résultats et leurs interprétations.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

Chapitre 1

Pro-oxydants, antioxydants, et polyphénols

La production de l'énergie par l'oxydation de la matière organique dans les organismes multicellulaires ne se fait qu'en présence d'O₂. Une faible quantité de ce dioxygène peut se transformer aux métabolites délétères à la cellule. Ces métabolites toxiques sont connus par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Tessier & Marconnet, 1995).

1.1. Types des espèces réactives d'oxygène

1.1.1. Selon leur structure chimique

On peut différencier deux types d'ERO, radicalaires ou non-radicalaires (Favier, 2000) :

- ❖ **Radicalaires** : ce sont les formes réduites de O₂ représentées par l'anion superoxyde (O₂•) et le radical hydroxyl (OH•). Les radicaux oxyl (RO•), peroxy (ROO•) et le monoxyde d'azote (NO•) font aussi parties de cette catégorie. Les éléments de ce type des ERO sont des pro-oxydants causent le stress oxydatif.
- ❖ **Non-radicalaires** : surtout le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le dioxygène singulet (l'O₂), l'acide hypochloreux (HOCl), l'ozone (O₃) et le peroxydinitrite (ONOO-) (Baudin 2006 ; Aron & Kennedy, 2008).

1.1.2. Selon l'origine de production

1.1.2.1. Production endogène

- ✓ L'anion superoxyde O₂•- est produit par l'oxydation incomplète d'oxygène au niveau mitochondrial, mais aussi la poussée respiratoire des polynucléaires neutrophiles et les oxydases sont également des sources cellulaires de l'anion superoxyde. L'anion superoxyde conduit au cours de véritables chaînes d'oxydoréductions à la formation des espèces très réactives tel le radical hydroxyle OH• (Ji, 2001) ;
- ✓ Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ : Selon la réaction de Fenton le H₂O₂ se dégrade pour donner l'hydroxyle radicalaire OH• en présence des ions métalliques libres du fer (Fe₂₊) (Achat, 2013) ;

Le radical alkoxy RO• se forme en présence des ions métalliques, tel que Fe²⁺, après la dégradation de ROOH (Migdal, 2011).

1.1.2.2. Production sous l'effet des facteurs exogènes

- ✓ Selon Afonso *et al.* (2007), les rayonnements UV ainsi que les radiations ionisantes peuvent induire la génération de radicaux libres ;
- ✓ L'ingestion d'alcool, à son tour, peut provoquer la formation de radicaux libres par des mécanismes divers (Ha *et al.*, 2004) ;

- ✓ Des substances toxiques telles que le monoxyde et le dioxyde d'azote (NO, NO₂) sont trouvées dans le goudron, le tabac, et dans les polluants industriels ont été rapporté
- ✓ d'avoir induit une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires (Ha *et al.*, 2004).

1.2. Stress oxydatif

Selon Sies *et al.* (1991), le stress oxydant est l'incapacité de l'organisme à se résister contre les affections des EROs, causé par un déséquilibre entre les mécanismes de défense antioxydante et la production des ERO. Ce stress peut être limité à courte durée ; donc un état de redox physiologique s'établit rapidement sous l'effet du système antioxydant. Par contre, ce stress pourrait se prolonger, et par conséquent diverses pathologies dégénératives pourraient apparaître.

Le stress oxydant déclenche des réactions d'oxydations en cascade dans l'organisme humain causant maintes pathologies telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

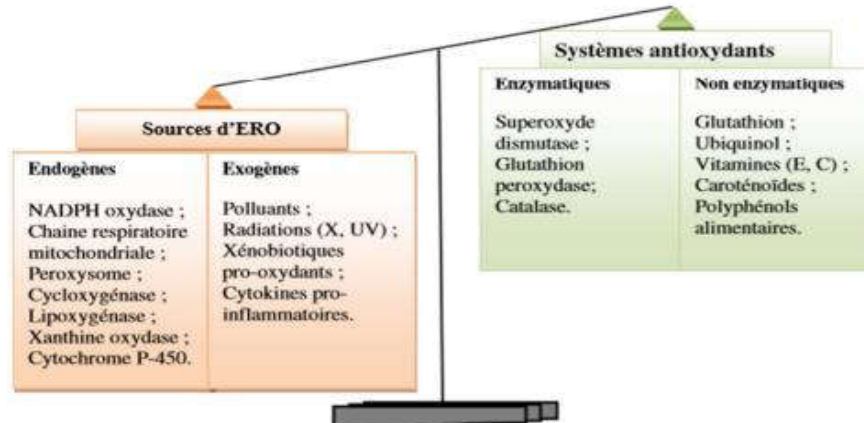


Figure1 : Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Achat, 2013).

1.3. Les antioxydants

Selon Hamidi (2013), les antioxydants sont toutes les substances qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs pour empêcher ou retarder l'oxydation des substrats biologiques. Selon Ribeiro *et al.* (2001), l'action antioxydant de ces substances se fait par deux mécanismes :

1.3. Les antioxydants

Selon **Hamidi (2013)**, les antioxydants sont toutes les substances qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs pour empêcher ou retarder l'oxydation des substrats biologiques. Selon **Ribeiro *et al.* (2001)**, l'action antioxydant de ces substances se fait par deux mécanismes :

1) Neutralisation des radicaux libres et l'empêchement des différentes réactions oxydatives en chaîne stimulées par ces derniers ;

2) Destruction des composés intermédiaires formant des radicaux libres tel que les hydroperoxydes (en cassant la liaison O-O), et la diminution de la vitesse de formation de ces radicaux.

1.3.1. Types d'antioxydants

Selon leur origine, on distingue deux types d'antioxydants ; certains sont fabriqués par le corps humain (endogènes) et d'autres proviennent de notre alimentation (exogènes) tels que les vitamines et les polyphénols (**Pincemail & Defraigne, 2004**).

1.3.1.1. Les antioxydants endogènes

Ce sont des moyens enzymatiques (tel que la superoxyde dismutase ou SOD, la catalase, la glutathion peroxydase, l'hème oxygénase, et la peroxyrédoxine) et non-enzymatiques (on trouve des protéines telle la transferrine et la ferritine, ainsi des molécules de petite taille telle la glutathion, l'acide urique, la bilirubine, l'ubiquinone, etc).

1.3.1.2. Les antioxydants exogènes

➤ Antioxydants naturels

En plus de minéraux, le règne végétal nous offre 4 principaux antioxydants : les polyphénols, les caroténoïdes, les vitamines C et E. Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. D'ailleurs, l'homme consomme quotidiennement environ un gramme de polyphénols dont la moitié de ces apports est assurée par les fruits et légumes (**Augustin, 2003**).

1.4. Généralités sur les polyphénols

Avant l'apparition du terme polyphénol, l'appellation "tanin végétal" était utilisée du fait de leur utilisation au tannage des peaux. En 1957, les tanins ont été définis par White comme étant molécules polyphénoliques végétales possédant une masse molaire entre 500 et 3000 daltons (Da) et permettant la réticulation par la formation de liaisons hydrogènes avec les molécules de collagène (**Manon A, 2018**).

Selon **Quideau *et al.* (2011)**, les polyphénols sont les métabolites secondaires des plantes dérivés de shikimate/ phénylpropanoïde ou de polykétides ; possédant d'au moins un cycle phénolique

(Fig. 1) et ne comprennent aucun groupe fonctionnel contenant de l'azote.

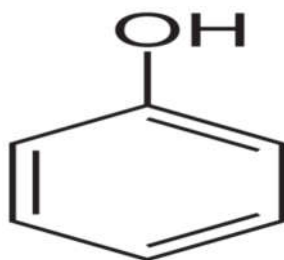


Figure 2 : Structure d'un cycle phénolique (Sarni-Manchado&Cheynier, 2006).

1.5. Classification des polyphénols

Avec plus de 8 000 composés phénoliques identifiés à ce jour, leur classification reste complexe et déroutante. Bien que tous les polyphénols aient des structures chimiques similaires, il existe quelques différences distinctives. Selon **Chira *et al.* (2008)**, les polyphénols peuvent être divisés en deux classes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes.

1.5.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, avec plus de 6000 molécules, constituent la classe la plus dominante des polyphénols. De plus qu'ils confèrent la pigmentation typique de chaque plante, ils jouent différents rôles ; protection contre les UV, résistance aux maladies, et fixation de l'azote (**Crozier, 2003**). Ils partagent tous la même structure de base : enchaînement 2-phényl chromane (**Fig. 2**). Ces composés naturels sont très répandus chez les plantes vasculaires, réparties sur différents groupes ; principalement les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (**Erlund, 2004**).

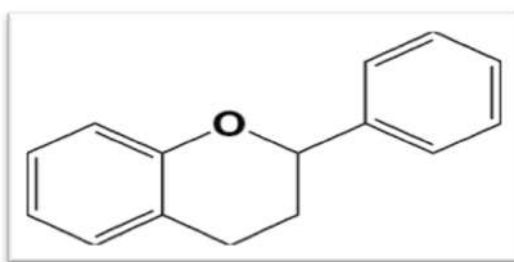


Figure 4: Structure de l'enchaînement 2-phényl chromane (flavane) (Derbel&Ghedira, 2005)

1.5.2. Acides phénoliques

Ce sont des composés phénoliques naturels dont leurs structures contiennent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont divisés en deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (**Bruneton, 2008**).

❖ Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)

Ce sont les dérivés les plus fréquents chez les végétaux et les denrées alimentaires, surtout dans les fraises, certains fruits rouges, épices et l'oignon ; dont leurs concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (**Manach et al., 2004**). On peut déceler l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique (**Chira et al., 2008**).

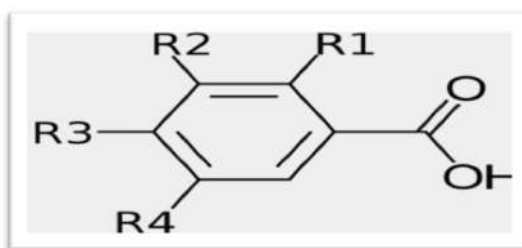
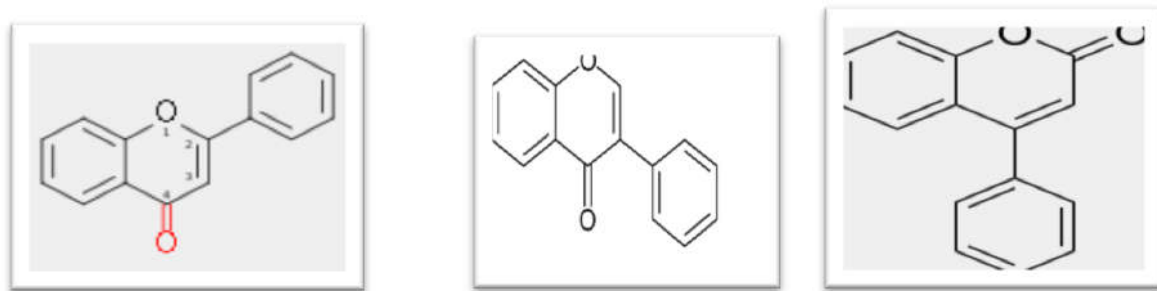


Figure 3: Structure de base des acides hydroxybenzoïques (**Manach et al., 2004**).

❖ Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)

Ils sont aussi désignés sous le terme de phénylpropanoïdes. Ils sont caractérisés par une structure de base formée d'un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupements hydroxyles souvent estérifiés en ester d'alcool aliphatique (**Rezaire, 2012**). Ces acides peuvent être amidifiés ou combinés avec des sucres (Oacylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique (**Han et al. 2007**).

L'acide le plus répandu dans cette sous-classe est l'acide caféique dont il représente 75 à 100% des acides hydroxycinnamiques dans la majorité des fruits sous forme d'ester de l'acide tomate, olive, et la pomme (**Manach et al., 2004**). Une teneur élevée en acide chlorogénique est contenue dans la pomme (430 mg/kg), et une tasse de café peut en contenir jusqu'à quinze (acide chlorogénique). On peut le trouver également aussi dans les graines de café, 350 mg (**Podsdek et al., 2000 ; Manach et al., 2004**).



Flavone

Isoflavone

Néoflavonoïde

Figure 5: Structures de base des flavonoïdes (Kabera *et al.*, 2014).

Tableau 1 : Les flavonoïdes et leurs sources naturelles (Erlund, 2004).

Flavonoïdes	Sources naturelles
Flavones (ex. Apigénine)	Céleri, vigne sauvage passion (passiflore pourpre), Persil
Flavones (ex. Baicaline)	Calotte chinoise (<i>Scutellaria baicalensis</i>)
Flavonols (ex. Quercétine)	Oignon, aubépine chinoise, réglisse, mûrier blanc olive, tomate, thé vert, busserole, vigne.
Flavonols glycosylés rutine (rutoside)	Gomme rouge, sarrasin.
Flavan-3-ols (ex. Catéchine)	Thé vert, vigne.
Flavanones (ex. Naringénine)	Orange amère, citron vert, citron Gallet ou lime.



Figure 6 : Structure de base des acides hydroxycinnamiques (Chira *et al.*, 2008).

1.5.3. Les tanins

Ce sont des polyphénols complexes présents principalement dans les céréales, les légumineuses, et les fruits (Zoughlache, 2008). On distingue deux types de tanins selon leur structure et l'origine biogénétique à savoir : les tanins condensés (non hydrolysables) et les tanins hydrolysables (Michelline MRK, 2009) :

❖ Les tanins non hydrolysables (condensés)

Sont des polymères de flavonols (catéchols) et de proanthocyanidols ; des composés insolubles amorphes avec couleur rouge (phlobaphènes) ;

❖ Les tanins hydrolysables

Leurs polymères sont appelés des tannoïdes. Ce sont des esters du glucose et d'acides phénoliques (l'acide gallique et l'acide éllagique).

1.5.4. Les stilbènes

Leur structure est composée de deux noyaux benzéniques reliés par un pont éthène (Bruneton, 1999). Le seul stilbène identifié dans l'alimentation humaine est le resvératrol (3-4"-5trihydroxystilbène) (Derbel & Ghedira 2005).

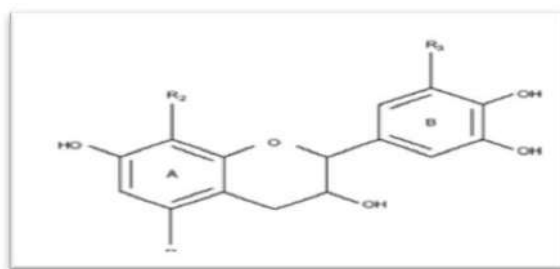


Figure 7 : Structure du trans-resvératrol (Derbel&Ghedira 2005).

1.5.5. Les Lignanes

Ils se forment par une liaison entre deux acides hydroxycinnamiques à travers le carbone de la chaîne latérale du chaque acide (Michel, 2011). Les lignanes sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lins que dans certaines graines de céréales, fruits, certains légumes (Rezaire, 2012).

1.6. Rôle des polyphénols

1.6.1. Chez les plantes

Selon Schijlen *et al.* (2004) et Stalikas (2007), les composés phénoliques jouent un rôle primordial dans la physiologie de la plante. D'ailleurs, ils assurent :

- ✓ La pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour l'attraction des pollinisateurs
- ✓ La formation d'un système de défense contre les micro-organismes pathogènes ;
- ✓ La protection des plantes contre les radiations UV (absorption des radiations et captation des espèces réactives de l'oxygène) ;
- ✓ La fertilité des plantes et la germination du pollen.

I.6.2. Chez l'homme et l'animal

Du point de vue épidémiologique, la consommation des aliments riches en polyphénols peut assurer une protection contre des différentes pathologies (**Manach *et al.*, 2004 ; Hertog *et al.*, 1995**). Il a été démontré que les polyphénols jouent un rôle antibactérien (**DaasAmiour *et al.*, 2014**), antiviral (**Martin-Benlloch *et al.*, 2019**), anti-inflammatoire (**Aboura *et al.*, 2017**), analgésique (**Sutradhar *et al.*, 2008**), antiulcéreux (**Gurbuz *et al.*, 2009**), et anticancéreux (**Zeriouh *et al.*, 2017 ; Ghanemi *et al.*, 2017 ; Nani *et al.*, 2019**).

Chapitre 2

Généralités sur les

techniques

d'extractions

Les besoins de l'industrie des produits qui répondent à des spécifications données, nécessitant une séparation préalable en différents constituants ou différentes fractions, pour cela il existe des méthodes de séparation, décrites comme un ensemble des procédés mécaniques et physiques, chimiques qui permettent de séparer les divers corps purs formant un mélange, c.-à-d. qu'elles permettent de réaliser le transfert d'un soluté initialement contenu dans une phase liquide, solide ou gaz vers une phase non miscible au premier milieu. Parmi ces techniques : infusion, décoction, macération, soxhelt, extraction par fluide supercritique, extraction assistée par les ultrasons, fractionnement par micro-ondes (**Bernard A.S., et al ., 2014**).

2.1. Infusion

L'infusion est la forme de préparation la plus simple on l'applique généralement aux organes délicats de la plante fleurs, feuilles aromatiques, sommité, etc. Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles : essences, résine, huiles, etc. (**Baba Aissa, 1999**). L'infusion s'obtient en versant de l'eau bouillante sur une quantité déterminée de plante : après avoir versé l'eau bouillante on recouvre aussitôt le récipient de son couvercle afin de provoquer la condensation des vapeurs riches en produits volatiles et leur retombée dans le liquide d'infusion. Après un laps de temps variable selon la nature de la plante, on effectuera le filtrage indispensable avant toute utilisation (**Gouegoui Bohui, 2018**).

2.2. Décoction

Le processus d'extraction par décoction consiste à faire bouillir dans de l'eau une partie ou la totalité de la plante. Elle s'applique en général aux racines, écorces, bois, rameaux, pendant un temps déterminé (5 à 10 mn). Laisser macérer pendant un autre laps de temps et procéder enfin au filtrage (**Leybros et Frémeaux, 1990**).

La différence entre la décoction et l'infusion est la température à laquelle les substances sont extraites d'une matrice naturelle (feuille, fleur, écorce, etc.). Pendant la décoction, l'ébullition est maintenue et la température est donc maximale alors que l'infusion est réalisée à partir d'une eau, éventuellement très chaude, dans laquelle on plonge la plante. On ne maintient pas le chauffage pendant l'infusion. On extrait moins de substances lors d'une infusion, et on risque moins de décomposer les substances extraites si elles sont thermiquement peu stables, comme le sont de nombreux produits naturels (**Zaabar, 2015**).



Figure8: Les techniques d'extraction (Infusion et Décoction) (Zaabar, 2015)

2.3. Macération

La macération est une extraction solide-liquide dans lequel le composé bioactif (soluté) à l'intérieur de la matière végétale est extrait par un solvant spécifique pendant une période de temps bien déterminée (Takeuchi *et al.*, 2009). L'efficacité du processus de macération est déterminée par deux facteurs principaux la solubilité et la diffusion. La macération est le choix le plus fréquent des chercheurs vu la simplicité de la mise d'un système d'extraction par macération. L'inconvénient de la macération est la longue durée d'extraction réduite toutefois par agitation (Cheok *et al.*, 2014 ; Zaabar, 2015).

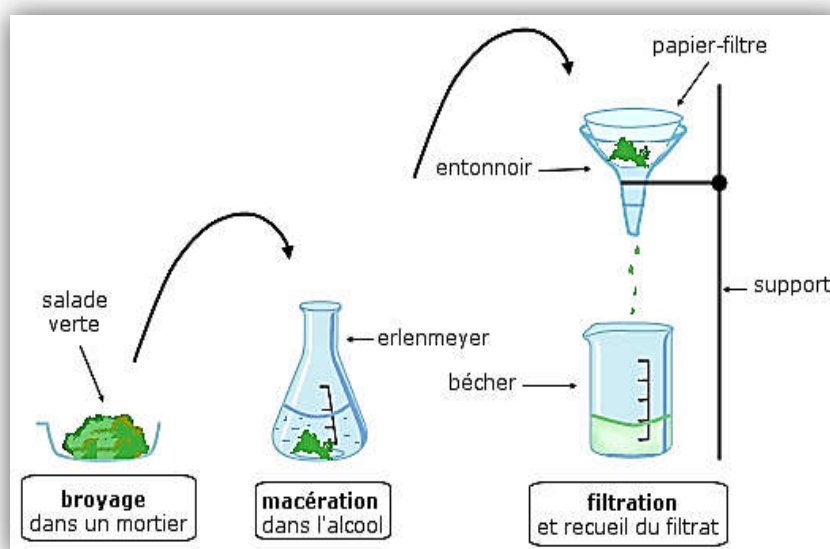


Figure 9: Macération (Gouegoui Bohui, 2018)

2.4. Soxhlet

L'extracteur Soxhlet est un appareil en verre permettant d'extraire un échantillon à l'aide d'un solvant. Lors d'une extraction au Soxhlet, l'échantillon est placé à l'intérieur d'une cartouche en matériau poreux chimiquement inerte puis transféré dans le corps principal en verre de l'extracteur. Le solvant est placé dans le ballon, puis installé en dessous du corps principal, et au-dessus d'un chauffe-ballon. Au-dessus de l'extracteur se trouve un réfrigérant facilitant la condensation des vapeurs de solvant et leur recyclage. De cette façon, le cycle d'extraction se répète continuellement (Thi Kieu Tiên DO, 2016). Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides, ou de diverses autres catégories de molécules. De plus, ce procédé est généralement long et nécessite de grande quantité de solvants organiques.

Ces dernières années, les progrès en matière de méthodes d'extraction ont eu pour principal objectif de réduire les temps d'extraction et les volumes de solvants utilisés tout en améliorant la sélectivité et en permettant l'automatisation. Des techniques d'extraction par fluides supercritiques, ou assistées par ultrasons, et micro-ondes ont ainsi fait leur apparition (Cseke, 2005; Thi Kieu Tiên DO, 2016; Lopez-Bascon et M, A, 2020).

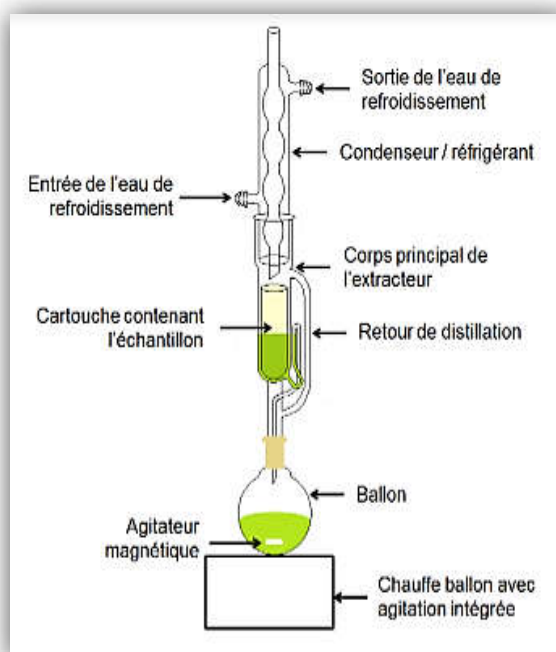


Figure10 : Schéma de l'appareillage d'extraction au Soxhlet. (Lopez-Bascon et M, A, 2020)

Les procédés d'extraction conventionnels de métabolites secondaires et principes actifs des plantes présentent souvent des inconvénients. Ces procédés donnent de faibles rendements d'extraction, nécessitent des temps d'extraction très longs, et utilisent de grandes quantités de solvants et d'énergie. Ces derniers temps, plusieurs nouvelles techniques et méthodes d'extraction ont été mises en œuvre afin de pallier à ces problèmes. Parmi elles se trouvent les extractions par ultrasons, les fluides supercritiques et celles par micro-ondes (Lucchesi, 2005 ; Nait sidi Ahmed, 2012)

2.5. Extraction par fluide supercritique

Un fluide supercritique est un fluide à une température et une pression au-dessus de son point critique, où il n'existe pas de phases distinctes de liquide et de gaz. Un fluide supercritique a la densité typique d'un liquide, viscosité similaire à celui d'un gaz, et intermédiaire de diffusivité entre ceux d'un liquide et d'un gaz. En raison de leur faible viscosité et haute diffusivité les fluides supercritiques possèdent de bien meilleures propriétés de transport que le liquide (Shahid *et al.*, 2015). Le dioxyde de carbone (CO_2) est le fluide supercritique le plus couramment utilisé du fait de ses conditions critiques modérées. Dans des conditions de haute pression et à température supérieure à 31°C , le CO_2 se trouve dans un état dit « supercritique », intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, le CO_2 présente la particularité d'extraire les molécules aromatiques à partir de la matière première (Chenni, 2016).

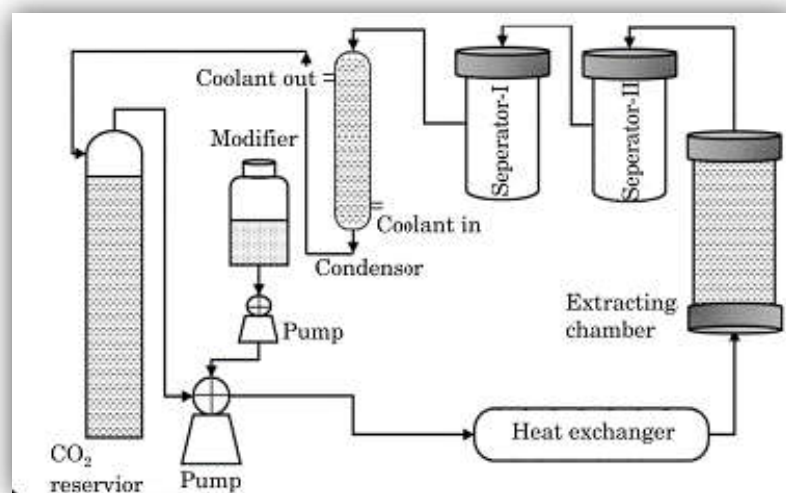


Figure 11: Extraction par fluide supercritique (Shahid *et al.*, 2015)

2.6. Extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons a été mise en point dans le but d'améliorer l'efficacité et le rendement d'extraction, et de réduire le temps et la consommation d'énergie durant l'extraction (Chenni, 2016). La gamme de fréquences des ultrasons est comprise entre 300 MHz–300 GHz (Picot *et al.*, 2020). Les ultrasons sont utilisés à faible puissance (< 1 Watt) pour des contrôles non destructifs et à forte puissance pour l'extraction solide-liquide et la sonochimie. Cette dernière est l'application des ultrasons (US) à une réaction chimique. Elle est en plein essor dans le secteur industriel, en particulier dans le domaine agroalimentaire (Assami, 2014).

- **Principe**

Son principe consiste à immerger la matière végétale dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Pendant la sonication, les ondes sonores (20 kHz à 10 MHz) utilisées induisent des vibrations mécaniques agissant comme un piston dans la surface du milieu, et conduisent au phénomène de cavitation à travers une succession de phases d'expansion et de compression. L'implosion des bulles de cavitation générées donne lieu à des micro-jets pour détruire les glandes sécrétrices des HEs afin de faciliter le transfert de masse et la libération de l'HE (Chenni, 2016 ; Sania *et al.* ,2020 ; Picot *et al.*,2020).



Figure12 : Extraction assistée par ultrasons (Sania *et al.* ,2020) .

2.7. Extraction par micro-ondes

Les premiers travaux utilisant les micro-ondes pour extraire des composés organiques ont été publiés par (Ganzler *et al.*, 1986 ; Lane *et al.* , 1986). Depuis cette date, l'extraction végétale assistée par micro-ondes a été le fruit de nombreuses recherches et de brevets.

- **Principe**

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques non ionisantes qui se propagent dans le vide à la vitesse de la lumière. Elles sont caractérisées par une fréquence comprise entre 300 MHz et 300 GHz (Camel, 2001 ; Shahid *et al.*, 2015) c'est-à-dire par une longueur d'onde comprise entre 1 m et 1 cm. Sur le spectre électromagnétique (figure14), elles sont situées entre les radiofréquences et les infrarouges (Kingston et Haswell, 1997).

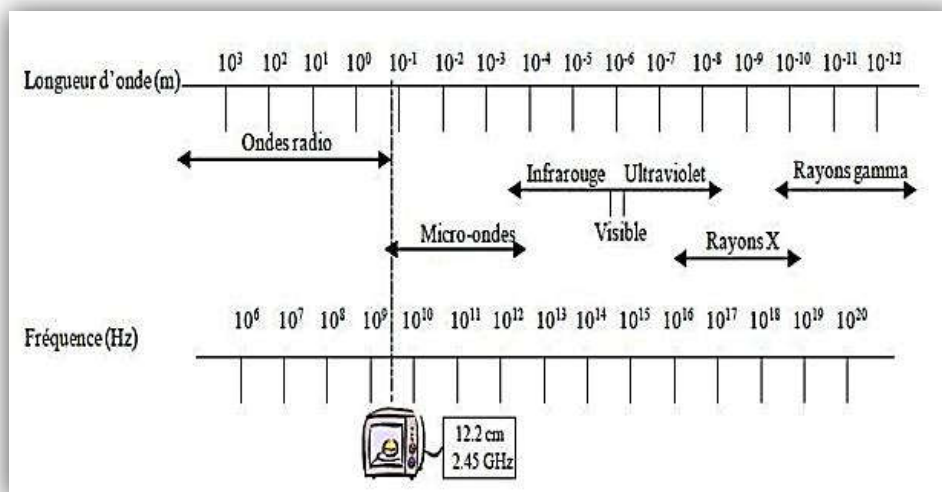


Figure13 : Spectre électromagnétique (Shahid *et al.*, 2015).

Les micro-ondes sont capables de pénétrer dans les biomatériaux et de générer de la chaleur en interagissant avec les molécules polaires comme l'eau. L'interaction entre les micro-ondes et les molécules polaires conduit à un surchauffage interne et une perturbation de la structure cellulaire facilitant la diffusion du composé bioactif à partir de la matrice végétale (Kaufmann et Christen, 2002 ; Cheok *et al.*, 2014 ; Zia *et al.*, 2020). Le transfert de chaleur sous chauffage aux micro-ondes est complètement inversé par rapport au chauffage conventionnel. Le transfert de chaleur classique se transmet de l'extérieur vers l'intérieur du récipient. Sous chauffage aux micro-ondes, le volume traité devient lui-même source de chaleur. On parle de dégagement de la chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du récipient. La paroi externe du réacteur est plus froide que

le milieu du réacteur dans le cas du chauffage aux micro-ondes, et inversement pour le cas du chauffage conventionnel par double enveloppe, plaque chauffante et flamme. C'est un mode de chauffage instantané en volume et non en surface. Les phénomènes thermiques de conduction et de convection ne jouent plus qu'un rôle secondaire d'équilibrage de la température. Des surchauffes locales peuvent également se produire. La figure 14 illustre les deux modes de chauffage (Lucchesi, 2006).

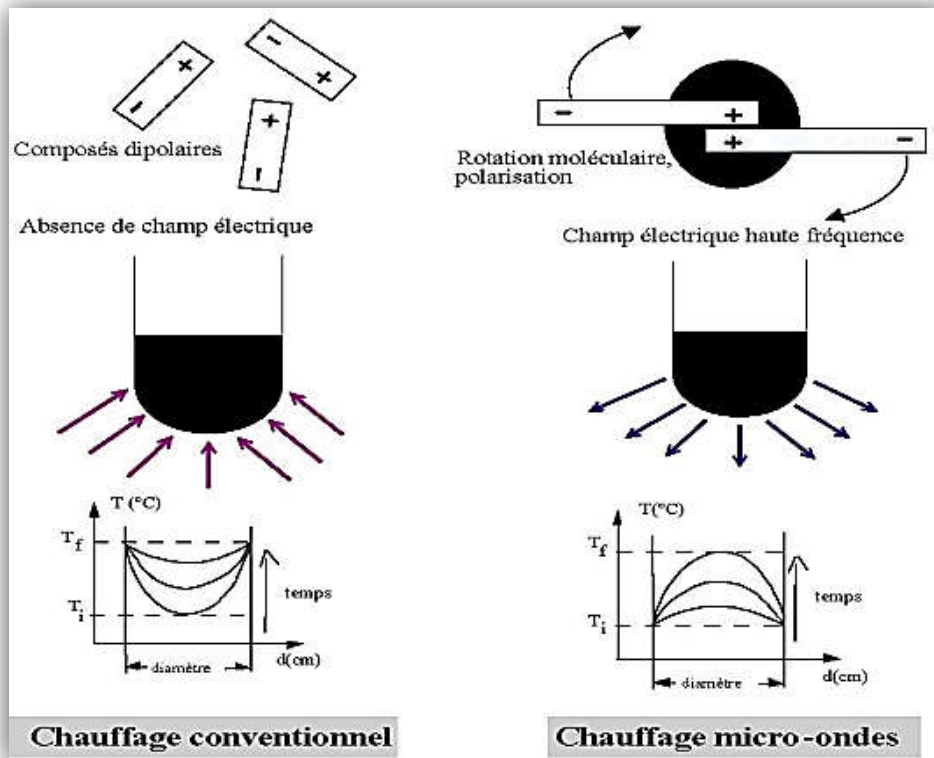


Figure 14 : Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et aux micro-ondes (Lucchesi, 2006).

Chapitre 3:
Le dattier du désert :
Balanites aegyptiaca

3.1. Généralités sur le dattier du désert

Le dattier du désert, *Balanites aegyptiaca*, est l'une des plantes sauvages appartenant à la famille des Zygophyllaceae dont l'arbre est originaire de l'Afrique et de certaines parties du Moyen-Orient. Cet arbre pousse plus communément dans les zones arides d'Afrique et d'Asie du Sud (Hall et Walker, 1991 ; Hall 1992). La taxonomie du dattier de désert est la suivante : (National Plant Data Center)

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae **Ordre** : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae **Genre** : *Balanites* Delile

Espèce : *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile

Nom commun : Dattier du désert

Appellations vernaculaires : Taborak ou Tougua (touareg), Tichtène (Mauritanie), El aloube (sudan).

Arabe ; Heglig



Figure 15: *Balanites aegyptiaca*

3. 2. Description Botanique du *Balanites aegyptiaca*

C'est un arbre multi branché et épineux pouvant atteindre 10 m de haut et 30 à 35 cm de diamètre. Il a une cime arrondie, dense (mais toujours vu à travers) avec de longs gros rameaux. Les ramifications (branches) sont près de la base. L'écorce a une couleur brun foncé à gris, avec des fissures profondes. Le *Balanites aegyptiaca* se caractérise par des grosses épines jaunes ou vertes atteignant 8 cm de long. Feuilles à deux feuilletés séparés ; folioles obovales, asymétriques, de 2,5 à 6 cm de long, vert vif, coriaces, à poils fins quand ils sont jeunes. Les fleurs sont en fascicules à l'aisselle et les feuilles sont parfumées et d'un vert jaunâtre (Chothani & Vaghasiya, 2011).

3.2.1. Description des fruits et des graines

Le fruit est une drupe allongée sous forme d'œuf, de 2,5 à 7 cm de long et de 1,5 à 4 cm de diamètre. Les jeunes fruits sont verts et deviennent jaunes et glabres à maturité. La pulpe est douce-amère et comestible (Wildeman, 1901). La graine de 1,5 à 3 cm de longueur et d'un brun clair, est fibreuse et extrêmement dure. Elle représente 50 à 60% du fruit. Il y a 500 à 1 500 graines sèches par kg (Chothani & Vaghasiya, 2011).

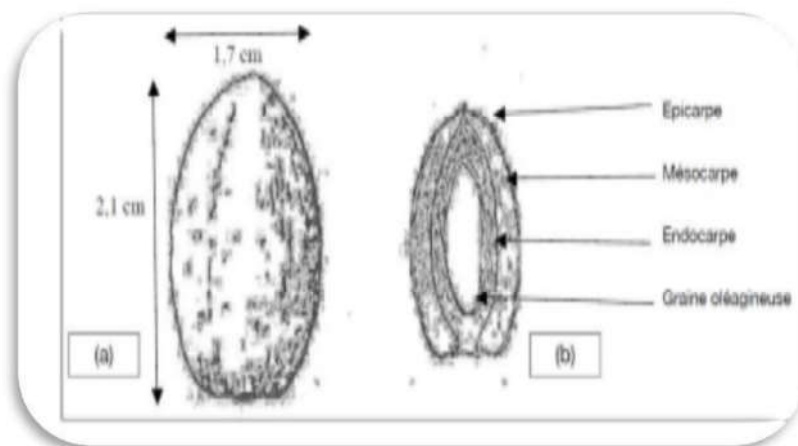


Figure 16 : Schéma du fruit de *B. aegyptiaca* (Chothani & Vaghasiya, 2011).

3.3. Ecologie et distribution de l'espèce *Balanites aegyptiaca*

Balanites aegyptiaca est une espèce des zones sahéliennes et soudano-sahéliennes. Elle est peu exigeante quant au sol. Elle est présente au Sahel sur les sols sableux, pierreux, argileux ou argilo-limoneux (Parkan, 1993). On le rencontre en Afrique tropicale sèche, du Sénégal au Soudan, en Afrique orientale, de l'Egypte à la Zambie, en Arabie et en Inde (Normand et Paqué, 1976; Arbonier, 2002)

3.4. Composition biochimique et valeur nutritive du fruit de *Balanites*

La pulpe (mésocarpe) de *Balanites*, contient des glucides particulièrement les sucres réducteurs estimés à environ 40.3% (Tayeau et al., 1995) . Selon Danthu et al, 2002) l'apport calorique de la pulpe de fruits de *B. aegyptiaca* est 212,25 kcal /100 g ce qui est supérieur à celui de plusieurs fruits tropicaux : banane (89 kcal), durian (126 kcal) et avocat (139 kcal). Ceci confère au fruit une source énergétique importante, surtout dans les zones rurales pauvres, où la nourriture est principalement à base de céréales (Sagna et al., 2014). Elle contient un apport intéressant et assez équilibré en protéines avec 21.8% d'acides aminés essentiels et un apport faible en lipides. Le potassium est le composé prédominant et le calcium, le magnésium et le fer ont également été identifiés en quantités importantes. La pulpe de *B. aegyptiaca* contient également une quantité importante d'acide ascorbique (Danthu et al, 2002).

Tableau 2 : Valeur nutritionnelle de la pulpe en % de matière sèche (Baumer M., 1995)

matière sèche	protéine brut	fibres brutes	cendres	lipides	glucides	calcium	potassium
66,3	11,1	10,2	8,1	1,7	68,9	0,16	0,4



Figure 19 : fruits de *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. (Sagna *et al.*, 2014)

Quant à l'amande de la graine, elle est caractérisée par sa richesse en lipides estimée à 41%, par une teneur appréciable en protéines de 27% alors que les glucides sont estimés à 21% (Tayeau *et al.*, 1995).

Tableau 3 : Composition en % biochimique de l'amande *Balanites* (Tayeau *et al.*, 1995).

Eau	Cendres	Protéines	Glucides	Lipides	Cellulose
3,8	3	27	21	41	4,5

3.5. Usage alimentaire et intérêt médicinale de dattier du désert

3.5 .1. Usage alimentaire humain

Le fruit est très riche en glucides, vitamines, et sels minéraux, et en protéine, et fibres ; elle est donc très intéressante dans l'alimentation de l'homme.

La consommation du fruit de *balanites* est proche de celle d'une datte ou d'une friandise. Macéré, il permet d'obtenir un jus naturel plein de vitamine, de fibres. Il peut être consommé après les repas, tel que par succion, une fois débarrassé de son épicarpe ou se forme de jus. Il stimule la production de lait chez les mères allaitantes. Pour cela, il est recommandé à la jeune mère de consommer régulièrement le jus naturel extrait du fruit. (Cook *et al.*, 1998 ; Lockett *et al.*, 2000). Elles sont bénéfiques pour l'appareil digestif similaire séché et réduites en poudre, elles sont utilisées pour réaliser des sauces

3.5.2. Usage alimentaire animale

Les feuilles et même les fleurs sont utilisées également pour l'alimentation animale. D'ailleurs elles constituent un pâturage très appétissant pour les ruminants : dromadaires, chèvres et moutons (**Berge *et al.*, 2006**). Au stades feuillaison et fructification les feuilles de *Balanites aegyptiaca* peuvent constituer une source importante de matières azotées et d'éléments minéraux (**Kaboré *et al.* , 2008**).

3.5.3. Utilisations médicinales

Toutes les parties de l'arbre sont utilisées dans la médecine traditionnelle de plusieurs pays du monde, principalement en Afrique et en Asie. (**Chothani & Vaghasiya, 2011 ;Yadav *et al.*, 2010**). Il est traditionnellement utilisé dans le traitement de diverses affections, telles que la jaunisse, l'infection intestinale, les plaies, le paludisme, la syphilis, l'épilepsie, la dysenterie, la constipation, la diarrhée, les hémorroïdes, les maux d'estomac, l'asthme et la fièvre (**Chothani & Vaghasiya, 2011**). Les larges utilisations médicinales de la plante dans ses zones de distribution surtout dans les pays de l'Afrique saharo-sahélienne (tableau) indiquent leurs grands intérêts médicaux et pharmacologiques (**Sagna *et al.*, 2014**) .

Tableau 4 : Utilisations médicinales et pharmacologiques de *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile (Sagna *et al.*, 2014).

Parties utilisées	Mode de préparation	Les affections traitées	Pays (références)		
Fruits (pulpe)	Pulpe pressée	Ulcère gastrique	Sénégal, (Moustapha B.S <i>et al.</i> ,2014) ; Niger (Fortin <i>et al.</i> ,1997)		
		Hypertension			
		Les amygdales			
				Diabète	Sénégal, (Moustapha B.S <i>et al.</i> ,2014)
				Des douleurs	
				Constipation	
					Burkina;Algérie (Chevalier <i>et al.</i> ,2003)
			Mali (Pousset, 1989)		
			Sénégal, (Moustapha B.S <i>et al.</i> , 2014); Burkina Faso ; Algérie (Chevalier <i>et al.</i> ,2003)		
Fruits (noyaux)	Poudre séchée	Vers intestinaux	Burkina Faso (Nacoulma, 1996)		
	Huile appliquée sur la zone touchée	Infections oculaires			
			Sinusite	Burkina Faso ; Algérie (Chevalier <i>et al.</i> , 2003)	
	Cuisson	Rhumatisme	Burkina Faso (Nacoulma, 1996)		
	Constipation				
Tronc (écorce)	Fumigation	Hémorroïde	Sénégal, (Moustapha B.S <i>et al.</i> ,2014)		
	Écorce macérée	Syphilis	Tchad (Creach, 1940), Burkina Faso (Chevalier <i>et al.</i> , 2003)		
	Écorce calcinée	Fatigue			
			Brûlures et blessures	Sénégal, (Moustapha B.S <i>et al.</i> , 2014); Somalie (Fortin <i>et al.</i> , 1997)	
Feuilles	Décoction	Variole	Mali (Imperato <i>et al.</i> , 1968)		
		Saignements de nez			
			Burkina Faso ; Algérie (Chevalier <i>et al.</i> , 2003)		
Les racines	Macération	Ictère	Soudan ; Égypte (Creach, 1940)		
	Non spécifié	Coliques			
			Épilepsie	Somalie (Pousset, 1992)	
			Burkina Faso ; Algérie (Chevalier <i>et al.</i> , 2003)		
Jeunes plantes	Macération	Douleurs abdominales	Sénégal, (Moustapha B.S <i>et al.</i> , 2014)		
		Anthrax			

3.6. Activités biologiques *Balanites aegyptiaca* in vitro

De nombreux travaux ont rapporté des activités biologiques du *Balanites aegyptiaca* :

- Propriétés antidiabétiques (**Fortin *et al.*, 1997 ; Abou Khalil *et al.*, 2016**)
- Propriétés anti-inflammatoire (**Abdallah *et al.*, 2012**).
- Propriétés antioxydantes (**Murthy 2020 ; Speroni *et al.*, 2005**)
- Propriétés antivirales (**Abou Khalil *et al.*, 2016**)
- Propriétés antihypertenseurs (**Moustapha *et al.*, 2014**), ,
- Propriétés anti-infectieuses (**Chevalier *et al.*, 2003**).
- Propriétés hypocholestérolémique (**Abou Khalil *et al.*, 2016**)
- Propriétés anti diurétiques (**chotani et Vaghasiya, 2010**)
- Propriétés de cicatrisation (**Abou Khalil *et al.*, 2016**)

Partie II:

Partie expérimentale

*Matériels &
Méthodes*

4. 1. Matériel végétal

Les fruits du *Balanites aegyptiaca* ont été récoltés par les ingénieurs de la Conservation des Forêts de la wilaya d'Adrar et nous ont été fournis par le Dr. Ouled Safi Mohammed, de l'Institut National de la recherche Forestière que nous remercions vivement. Ces fruits, connus par l'appellation vernaculaire Tougaa, ont été concassés pour en séparer les graines contenant des amandes. Ces dernières débarrassées de leurs coques, ont été broyées. La poudre ainsi récupérée a été conservée dans des flacons en verre pour des analyses ultérieures.



Figure 17 : Fruits (A) ; graines (B), amande (C) ; et poudre des amandes (D) de *Balanites aegyptiaca*.

4. 1.1. Détermination du taux d'humidité

- **Principe**

La détermination du taux d'humidité est effectuée par une dessiccation de l'échantillon dans une étuve isotherme de 103 à 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur.

Le taux d'humidité est déterminé selon le protocole décrit par **Wrolstad *et al.* (2005)**

- ✓ Les boîtes de Pétri ont été séchées à l'étuve pendant **30 min à 103°C** avec couvercles inclinés
- ✓ Après refroidissement dans un dessiccateur durant **30 min**, les boîtes de Pétri ont été pesées avec les couvercles (**P1**) ;
- ✓ Dans chaque boîte de pétri, **2 g** de l'échantillon ont été introduits puis, l'ensemble a été pesé avec les couvercles fermés (**P2**) ;
- ✓ Après un étuvage **de 3 h à 105°C** avec couvercles inclinés puis refroidissement dans un dessiccateur pendant **15 min**, les boîtes de Pétri sont pesées, ensuite ils sont remis dans l'étuve durant **1 h à 105°C** ;
- ✓ Après refroidissement comme précédemment, les boîtes de pétri sont pesées (**P3**) ;
- ✓ La différence entre deux pesées doit être inférieure à **2 mg**, si non l'opération est renouvelée jusqu'à poids constant.



Figure 18: Pesée de l'échantillon (a), échantillons dans un dessiccateur (b), étuve isotherme (c)

❖ **Expression des résultats**

Le taux d'humidité des amandes de *Balanites aegyptiaca* exprimé en pourcentage est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = [(P2 - P3) / P2 - P1] \times 100$$

Où :

P1 : masse en (g) de la boîte de pétri vide ;

P2 : masse en (g) de la boîte de pétri avec la prise d'essai avant séchage ;

P3 : masse finale en (g) de la boîte de pétri de avec la prise d'essai après séchage

A partir du taux d'humidité nous avons pu déterminer le taux de la matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{Taux d'humidité(\%)}$$

4.2. Extraction des composés phénoliques

Les extractions ont été faites selon le protocole décrit par **Prieto *et al.*** (2003) comme présentés dans le diagramme ci-dessous

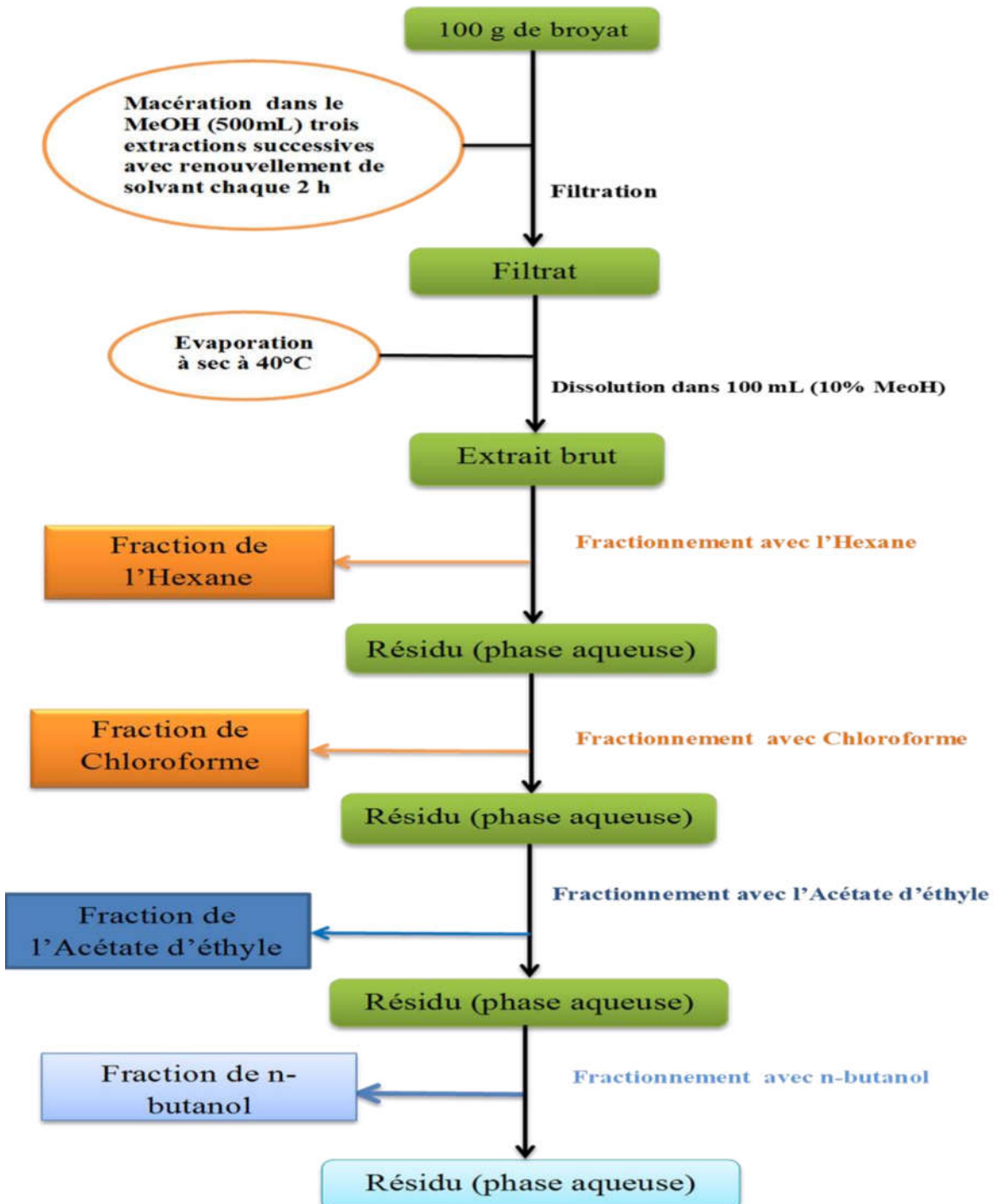


Figure 19 : Schéma du protocole d'extraction des polyphénols totaux suivie d'extraction liquide-liquide (Prieto *et al.*, 2003).

4.2.1. Extraction solide-liquide

Dans un premier temps, l'extraction des composés phénoliques a été réalisée en procédant à une extraction **solide-liquide** pour obtenir un extrait brut sec comme suit :

- ✓ 100 g de la poudre des amandes de *Balanites aegyptiaca* ont été macérés dans 500 mL de méthanol pur sous agitation magnétique pendant 2 h à température ambiante ;
- ✓ Le mélange a été filtré via un papier filtre sous vide à l'aide d'un Büchner relié avec une trompe à eau ;
- ✓ Le filtrat a été récupéré et l'échantillon a été ré-extrait avec 500mL de méthanol deux fois comme précédemment ;
- ✓ Après filtrations, les trois filtrats ont été réunis puis séchés sous pression réduite à basse température de 40 à 45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif ;

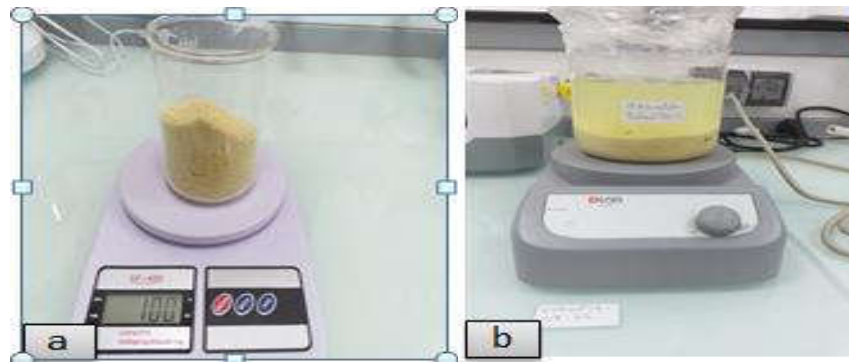


Figure 20: Pesée de l'échantillon(a), macération de l'échantillon sous agitation continue (b).



Figure 21 : Filtration de l'extrait par centrifugation(a), les trois filtrats obtenus (b)

4.2.2. Extraction liquide-liquide

Dans un deuxième temps, l'extrait brut obtenu par extraction solide-liquide subi une série d'extractions liquide-liquide en utilisant des solvants polaires et apolaires.

- **Principe**

Dans l'optique de séparer les extraits bruts de *Balanites* en fractions de différentes nous avons opté pour un fractionnement liquide-liquide qui permet de partager les molécules selon leurs propriétés physicochimiques entre deux phases liquides non miscibles.

L'extrait brut sec a été dissout dans 100 mL une solution hydro-méthanolique (10%) et a été fractionné successivement à volume égal trois fois avec d'hexane (H), avec le chloroforme, l'acétate d'éthyle (AE), le butanol. La phase aqueuse représente la dernière fraction obtenue. Les cinq fractions ont été évaporées à sec et récupérées dans 5 mL de méthanol.



Figure 22 : Les étapes de fractionnement de la phase hydro-alcoolique dans des solvants polaires et apolaires.

5. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction pour chaque extrait est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = [(P2-P1)] / M \times 100$$

Où :

Rdt : Rendement (%).

P1 : Poids en (g) du ballon vide séché avant l'extraction.

P2 : Poids en (g) du ballon après évaporation des solvants d'extraction.

M : Masse en (g) de la prise d'essai.

4.3. Détermination des polyphénols totaux

- **Principe**

La détermination des polyphénols totaux a été réalisée par un dosage colorimétrique basé sur le couplage du réactif *Folin-Ciocalteu* avec les composants phénoliques du matériel végétal (Brune *et al.* 1991). La réaction est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique ($H_{30}PM_{12}O_{40}$) du réactif de Folin-Ciocalteu (un acide couleur jaune, constitué de polyphénol acide contenant du molybdène et tungstène) par les polyphénols en milieu alcalin (Catalano *et al.*, 1999). Elle se traduit par le développement d'une coloration bleu foncé due à la formation d'un complexe Molybdène (M_8O_{23}) tungstène (W_8O_{23}) mesuré au spectrophotomètre.

- **Mode opératoire**

- ✓ À **500 μ L** de l'extrait, nous avons ajouté **2500 μ L Folin-ciocalteu** plus **2000 μ L $N_{a_2}CO_3$** à 7,5%
- ✓ le mélange bien agité est incubé à **l'obscurité pendant 1h à 20°C**;
- ✓ La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à **765 nm** au spectrophotomètre-UV Visible.

La gamme d'étalonnage est constituée par différentes concentrations d'acide gallique est préparée comme suit:

- ✓ 03 mg d'acide gallique sont pesés, puis mélangés dans 10 ml du méthanol à 99,6%; c'est la **solution mère de concentration 0,3 mg/ml**;
- ✓ A partir de cette solution mère, nous avons préparé des dilutions filles suivantes : 0,21 – 0,15 – 0,105 – 0,075 – 0,06 – 0,045 – 0,024 mg/ ml.
- ✓ Puis 500 μ l de chaque dilution est traitée avec la même procédure que celle des échantillons.



Figure 23: Gamme d'étalonnage des polyphénols totaux

- **Expression des résultats**

Les teneurs des polyphénols totaux, exprimées en mg EAG/g 100 MS, sont déterminées à partir de l'équation ci-dessus, déduite de la courbe d'étalonnage :

$$Y = 13,354x + 0,0258$$

Où:

Y: Absorbance mesurée à 765 nm:

x: Concentration en polyphénols totaux exprimées en mg/mL.

4.5. Détermination des flavonoïdes

Ce dosage est réalisé en utilisant la méthode colorimétrique au **trichlorure d'aluminium** et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, la soude forme ensuite un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510nm.

- **Mode opératoire**

Les flavonoïdes totaux sont dosés par colorimétrie selon le protocole de **Sakanaka *et al.*, (2005)** comme suit :

- ✓ À 250 µL d'extrait brut sont ajoutés 1250 µL d'eau distillée, puis 75 µL NaNO₂ à 5% ;
- ✓ Laisser réagir le mélange pendant 6 min puis ajouter 150 µL (AlCl₃, 6H₂O) à 10%;
- ✓ Laisser réagir le mélange pendant 5 min puis ajouter 500 µL NaOH à 4 % ;
- ✓ Le volume final est ajusté à 2500 µL avec l'eau distillée ;
- ✓ les tubes sont mélangés au vortex et l'absorbance mesurée immédiatement à **510 nm** dans un spectrophotomètre-UV Visible « Biochrom Libra S50 » ;
- ✓ La gamme d'étalonnage est constituée par différentes concentrations de catéchine est préparée comme suit:
- ✓ Une solution mère de **catéchine** à **0,25 mg/mL** a été préparée dans du MeOH ;

- ✓ À partir de la solution mère les dilutions filles suivantes ont été préparées : 0,015 – 0,03 – 0,045 – 0,90 – 0,12 – 0,15 – 0,2 mg/mL ;
- ✓ 250 µL de chaque dilution ont été traités avec la même procédure décrite ci-dessus.



Figure 24: Gamme d'étalonnage des flavonoïdes.

- **Expression des résultats**

Les teneurs des flavonoïdes totaux, exprimées en mg EC/g 100 MS, sont déterminées à partir de l'équation ci-dessus, déduite de la courbe d'étalonnage :

$$Y=3,404x + 0,021$$

Où:

Y : Absorbance mesurée à 510 nm

X : Concentrations en flavonoïdes exprimées en mg /mL.

- ❖ **Expression des résultats**

Les teneurs des flavonoïdes totaux, exprimées en mg EC/g 100 MS, sont déterminées à partir de l'équation ci-dessus, déduite de la courbe d'étalonnage :

$$Y=3,404x+0,021$$

Où:

Y: Absorbance mesurée à 510 nm

x: Concentration en flavonoïdes exprimées en mg /ml.

4.6. Détermination des tanins condensés

- **Principe**

La détermination des tanins condensés a été réalisée par un dosage colorimétrique basée sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés qui va engendrer la formation de complexes rouges (Scofield *et al.*, 2001). Ces complexes rouges sont formés grâce à la capacité de la vanilline à transformer les tanins en anthocyanidols (Sun *et al.*, 1998).

- **Mode opératoire**

- ✓ 400µL d'extrait sont mise dans des tubes, auxquels sont ajoutés 3000 µL de la réactive vanilline (4%de vanilline dans le méthanol) ;
- ✓ 1500µL d'HCl à 37% sont ensuite ajoutés ;
- ✓ Les tubes sont incubés pendant 20 min à température ambiante ;
- ✓ La lecture de l'absorbance des différentes concentrations est faite contre un blanc à 500 nm dans un spectrophotomètre Biochrom libra s 50.

La courbe d'étalonnage a été établie comme suite :

- ✓ Une solution mère de catéchine à 0.5 mg/mL a été préparée dans le MeOH;
- ✓ À partir de la solution mère les dilutions filles suivantes ont été préparées : 0,5 - 0,45 - 0,4 - 0,3 - 0,2 – 0,1- 0.05 mg/mL;
- ✓ 400 µL de chaque dilution est traitée avec la même procédure décrite ci-dessus



Figure 25: Gamme d'étalonnage des tanins condensés.

❖ Expression des résultats

Les teneurs des tanins condensés, exprimées en mg EC /g 100 MS, sont déterminées à partir de l'équation ci-dessus, déduite de la courbe d'étalonnage :

$$Y = 2,4885x + 0,048$$

Où:

Y: Absorbance mesurée à 500 nm

x: Concentration en tanins condensés exprimées en mg /mL.

4.7. Mesure du pouvoir antioxydant au test DPPH•

• Principe

Le mécanisme général de cette réaction est la réduction du radical libre 2:2 diphénylpicrylhydrazyl (DPPH•) ayant une couleur violette par les antioxydants (ArOH) en lui transférant un proton, alors il se transforme en composé jaune 2:2diphénylpicrylhydrazine stable DPPHH (figure18). L'intensité de la couleur violette est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à piéger les radicaux libres.

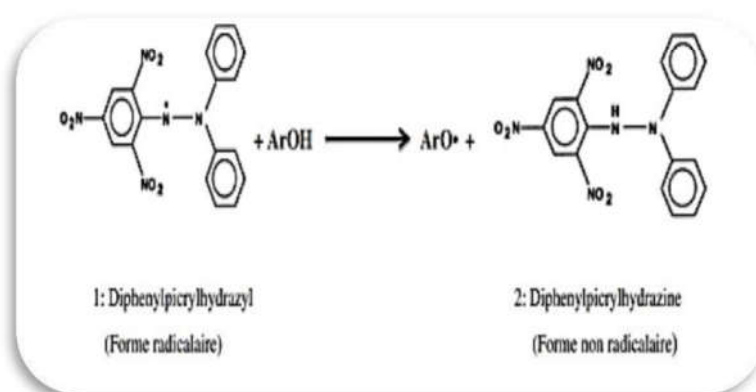


Figure 26: Réaction de réduction du DPPH• par les antioxydants (Pyrzynska et Pekal, 2013).

• Mode opératoire

Nous avons testé le pouvoir anti radicalaire de l'extrait brut de l'amande du *Balanites* selon la méthode décrite par **Masuda et al. (1999)** comme suit :

- ✓ Une solution méthanolique du DPPH• à 2,5 mM a été préparée ;

- ✓ À partir de l'extrait brut, on prépare une solution mère (SM) de 0,5 mg/mL les dilutions filles suivantes ont été préparées : 0,05- 0,1- 0,2- 0,4- 0,6- 0,025- 0,0125mg/mL ;
- ✓ Les mêmes dilutions ont été préparées à partir de solutions mères de 0.5mg/mL pour les deux références utilisées : acide gallique et vitamine C.

Pour chaque dilution, 03 tubes ont été préparés pour la série A₁.

- ✓ Dans le tube A₀, 2000 µL du méthanol, 50 µL du DPPH• et 100 µL du MeOH ont été introduits ;
- ✓ Dans les tubes de la série A₁, 2000 µL du méthanol, 50 µL du DPPH• et 100 µL de l'extrait ou référence ont été introduits ;
- ✓ Les tubes sont incubés pendant 30 min à une température 37°C à l'obscurité ;
- ✓ La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm.

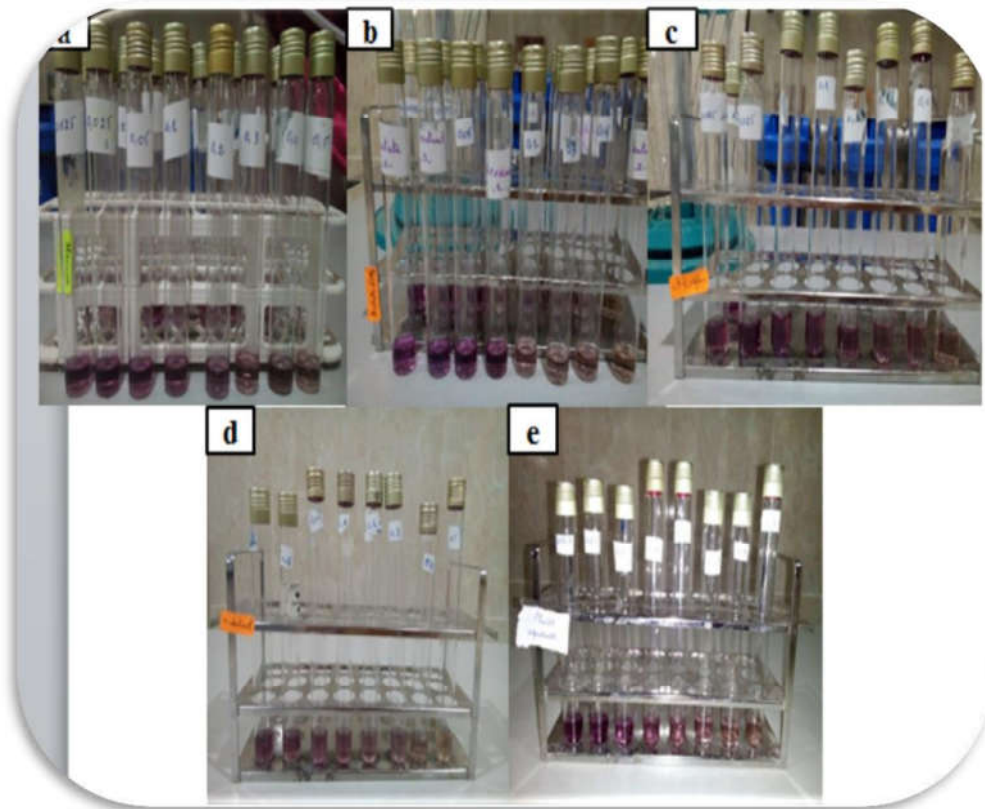


Figure 27 : Evaluation du pouvoir antioxydant dans l'extrait,(a)phase hexane,(b)phase Acétate d'éthyle,(c)phase Chloroforme,(d)phase n-butanol,(e)phase Aqueuse.

❖ **Expression des résultats**

Le taux de piégeage du radical DPPH• est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

Où :

A₀ : correspond au tube contenant 2000 µl MeOH, 50 µL DPPH•, et 50 µL MeOH (contrôle négatif du radical);

A₁ : correspond au tube contenant 2000 µl MeOH, 50 µL DPPH•, et 50µL de l'extrait ou références (Contrôle positif).

4.8. Détermination des EC₅₀

L'activité anti-radicalaire des extraits est exprimée en EC₅₀ qui correspond à la concentration de l'extrait permettant de réduire 50% du radical libre. Les valeurs des EC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés. Plus la valeur de l'EC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

4.9. Cinétique de réduction du radical libre de DPPH•

L'étude cinétique est réalisée par la mise en réaction du radical libre DPPH• avec la concentration inhibitrice EC₅₀ de l'extrait et des références. On note l'absorbance du mélange à 517 nm à différents intervalles de temps pendant **20 minutes à 37°C**.

*Résultats &
Discussion*

5.1. Taux d'humidité

L'appréciation du taux d'humidité contenue dans l'échantillon à analyser reflète sa susceptibilité aux altérations microbiennes lors du stockage (Reyens *et al.*, 1994 ; Ben salah et Hellali, 2011).

Nos résultats ont révélé un taux moyen d'humidité estimé à 4.67 %. Mansour et Barka (2019) ont trouvé une teneur en eau estimée à 2.18 %. La valeur d'humidité nous a permis de calculer le pourcentage de la matière sèche (M.S) du *Balanites aegyptiaca* qui a été estimé à 95.33%.

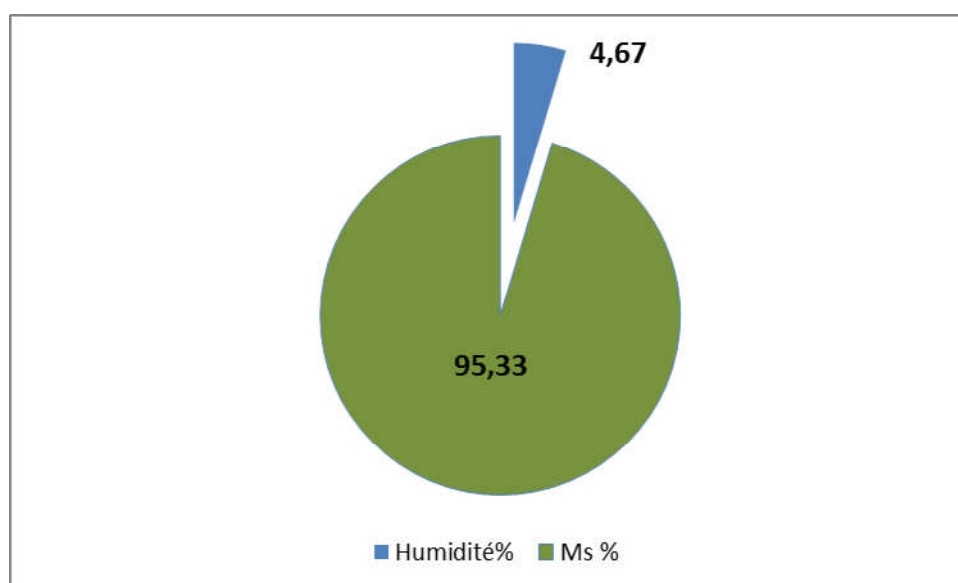


Figure 28: Proportions d'humidité et de matière sèche du *Balanites aegyptiaca*

5.2. Rendements des extractions

Après avoir évaporé le solvant d'extraction, nous avons calculé les rendements d'extractions par méthode gravimétrique. Le rendement d'extraction de l'extrait brut et les cinq fractions de l'amande du *Balanites aegyptiaca* sont cités dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Rendement en % d'extraction de l'extrait brut et les cinq fractions de l'amande du *Balanites aegyptiaca*.

Extrait Brut	Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	Aqueuse
13%	1,05%	1,30%	1,05%	5,77%	5,24%

5.3. Teneurs en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrie au réactif de *Folin-Ciocalteu*. Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Fig. 29**).

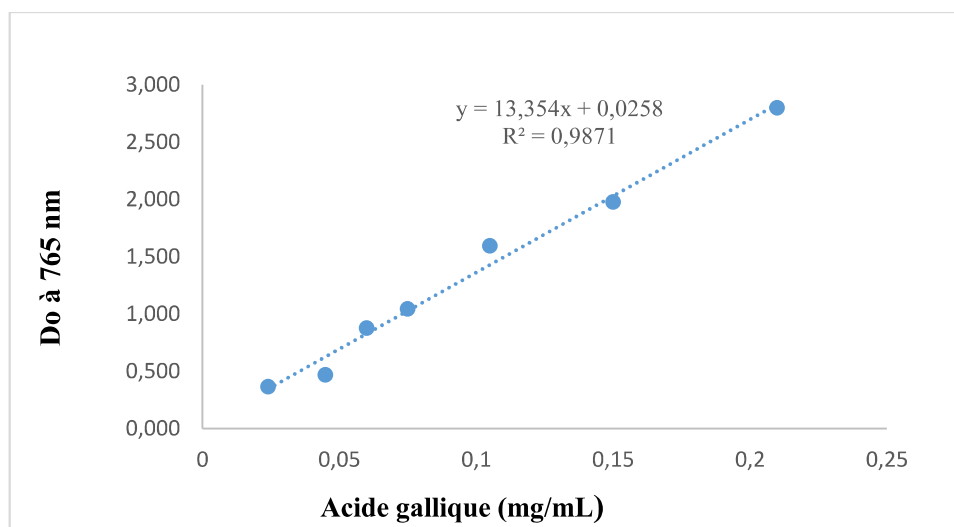


Figure 29: Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

Les teneurs des polyphénols totaux des fractions obtenues, la fraction hexane, la fraction chloroforme, la fraction acétate d'éthyle, la fraction n-butanolique et la fraction aqueuse sont respectivement 0,086, 0,136, 0,151, 0,149 et 0,115 mg EAG/g MS.

La succession des fractions est la suivante : Acétate d'éthyle > n-butanol > chloroforme > aqueuse > hexane.

Il est à noter, que les fractions acétate d'éthyle et butanolique enregistrent les teneurs les plus élevées de 0.151 et 0.149 mg EAG/g MS alors que la teneur la plus faible est celle de la fraction hexane de 0.086 mg EAG/g MS.

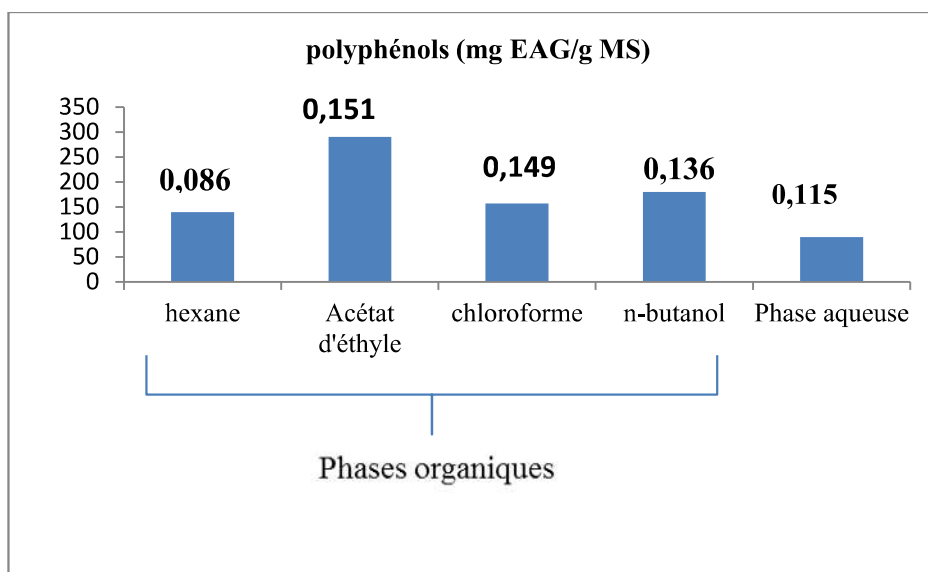


Figure 30 : Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g MS).

5. 4. Teneurs en flavonoïdes

Grâce à l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage nous avons pu calculer la teneur en flavonoïdes totaux dans notre extrait. La teneur des flavonoïdes est exprimée en microgramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g M.S.) (**Fig. 31**).

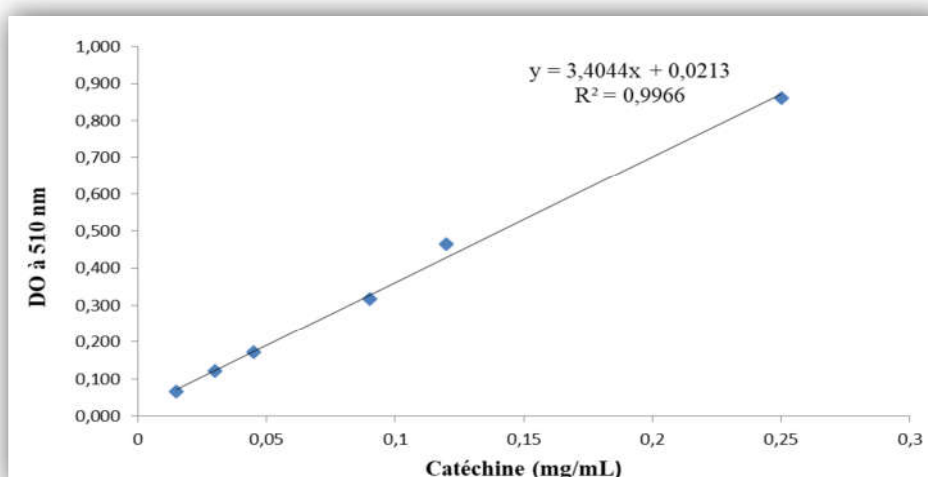


Figure 31: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Les teneurs des flavonoïdes des fractions obtenues, la fraction hexane, la fraction chloroforme, la fraction acétate d'éthyle, la fraction n-butanolique et la fraction aqueuse sont respectivement 0.007, 0.006, 0.02, 0.03 et 0.001 mg EC/g MS.

La succession des fractions est la suivante : n-butanol > Acétate d'éthyle > Hexane chloroforme > aqueuse.

Il est à noter, que les fractions butanolique et acétate d'éthyle enregistrent les teneurs les plus élevées de 0.03 et 0.02 mg EC/g MS alors que la teneur la plus faible est celle de la fraction aqueuse de 0.001 mg EC/g MS

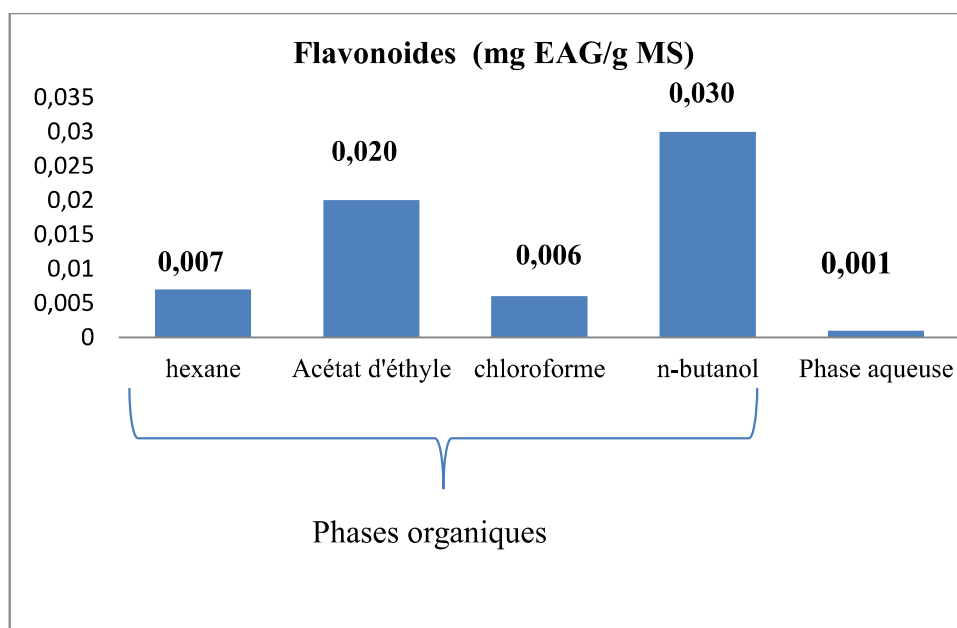


Figure 32 : Teneurs en flavonoïdes (mg EC/g MS)

5.5. Teneurs en tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés dans notre extrait ont été déterminées grâce à l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**Fig. 33**). La teneur des tanins condensés est exprimée en microgramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS)

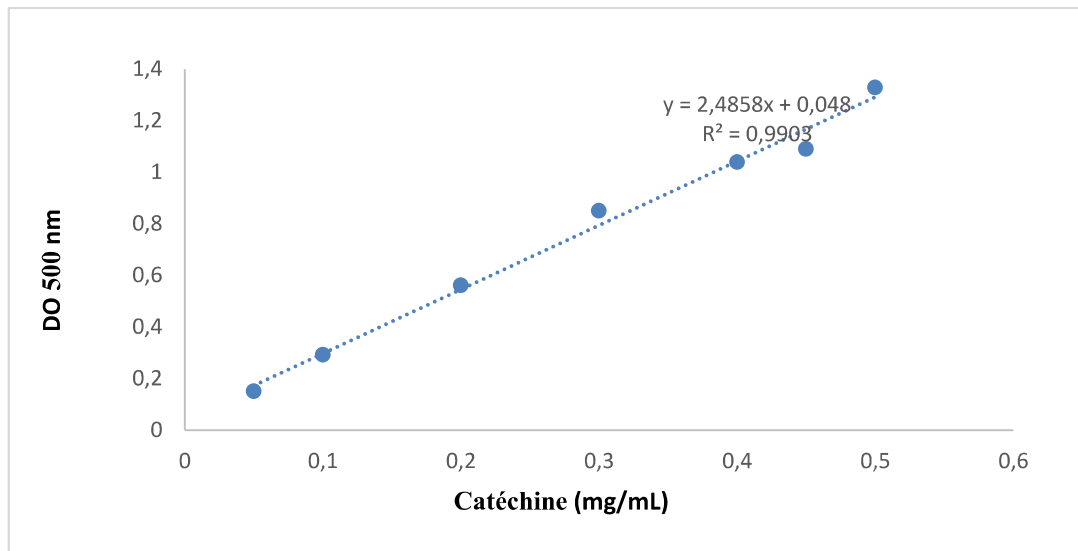


Figure 33 : Courbe d'étalonnage des tanins condensés.

Les teneurs des tanins condensés des fractions obtenues, la fraction hexane, la fraction chloroforme, la fraction acétate d'éthyle, la fraction n-butanolique et la fraction aqueuse sont respectivement 0.036, 0.034, 0.029, 0.012 et 0.017 mg EC/g MS.

La succession des fractions est la suivante : Hexane > chloroforme > Acétate d'éthyle > aqueuse > n-butanol.

Il est à noter, que les fractions hexane et chloroforme enregistrent les teneurs les plus élevées de 0.036 et 0.034 mg EC/g MS alors que la teneur la plus faible est celle de la fraction n-butanolique de 0.012 mg EC/g MS

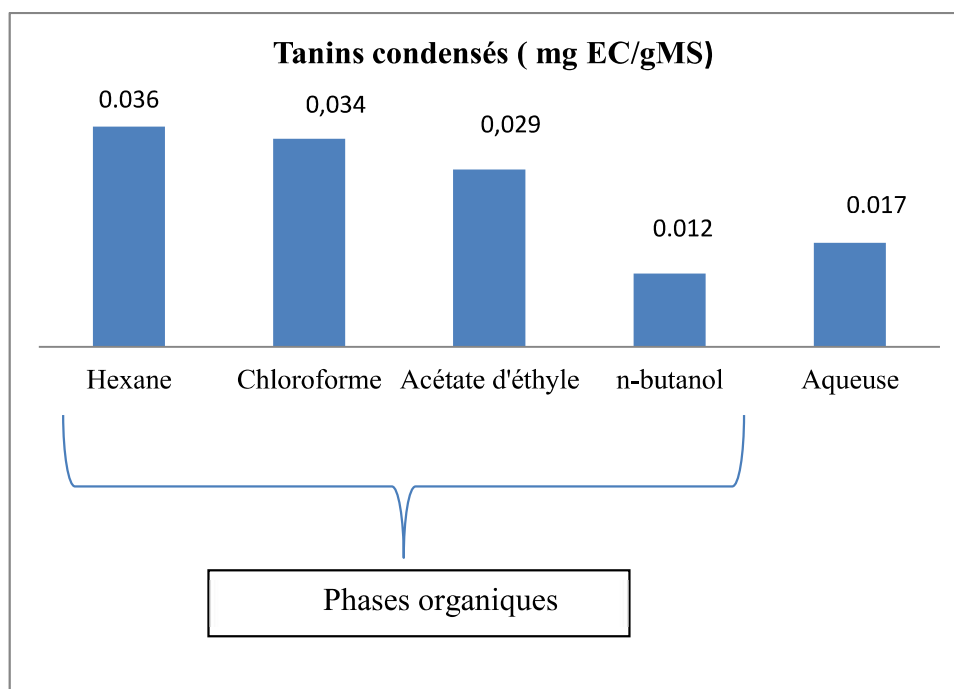


Figure 34: Teneurs en tanins condensés (mg EC/g MS)

L'analyse quantitative a révélé des taux variables en polyphénols et flavonoïdes et tanins dans les différentes fractions.

Les teneurs des polyphénols totaux sont de 0.151 et 0.149 mg EAG/g MS dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol, respectivement. Et les teneurs des flavonoïdes sont de 0.020 et 0.030 mg EC/g MS dans les fractions n-butanol et acétate d'éthyle, respectivement. Dans l'ensemble, il est à noter que les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes sont plus élevées dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol comparées aux autres fractions comme cela a été démontré dans l'espèce *Ranunculus macrophyllus* où ces mêmes fractions enregistrent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et flavonoïdes (**Deghima et al. 2021**). Par contre, les tanins condensés enregistrent les teneurs les plus élevées dans les fractions hexane et chloroforme de 0.036 et 0.034 mg EC/g MS. Cela a été également démontré dans l'espèce *Ranunculus macrophyllus* où les fractions apolaires enregistrent des teneurs élevées en tanins condensés (**Deghima et al. 2021**).

Mohamdi, 2013 rapporte que les solvants acétate d'éthyle, butanol, méthanol, et chloroforme sont utilisés pour le fractionnement de la charge en métabolites secondaires. L'essentiel de ces métabolites est retrouvé dans les fractions organiques avec des proportions différentes d'un échantillon à un autre.

Dans cette présente étude, les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins sont variables dans les différentes fractions cela pourrait être dû à la distribution des métabolites secondaires qui dépendrait de la nature des substances phénoliques contenues dans chaque fraction, de leur solubilité et de la polarité de chaque solvant comme cela a été indiqué par **Mohamdi, (2013)**.

Dans l'ensemble, il est rapporté par plusieurs études que la variabilité des teneurs en polyphénols, tanins, flavonoïdes chez les espèces végétales est les microorganismes photosynthétique est du probablement à la composition phénoliques des extraits (**Hayouni et al., 2007**) , aux facteurs génotypiques (**El- Waziry, 2007**), les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (**Ksouri et al.,2007**), la composition du milieu de culture (**Jean –Paul, 2006**) .

5.6. Pouvoir antioxydant : test au DPPH• anti radicalaire

Le test au DPPH• est couramment utilisé pour déterminer l'activité anti radicalaire des extraits de plantes. Le pourcentage du piégeage du radical libre DPPH• est défini par le rapport d'absorbance à 517 nm du mélange réactionnel qui contient le radical libre et la substance testée à différentes concentrations contre l'absorbance du radical libre. La capacité anti radicalaire d'un composé est souvent exprimé par l'indice "EC₅₀" qui représente la concentration en ce composé qui neutralise 50% de DPPH• mis en jeu. Plus la valeur d'EC₅₀ diminue, plus la capacité anti radicalaire de l'échantillon augmente.

Dans cette présente étude, nous avons utilisé l'acide gallique et vitamine C en tant qu'antioxydant de références. Nous avons déterminé les EC₅₀ des cinq fractions de l'amande de Balanites.

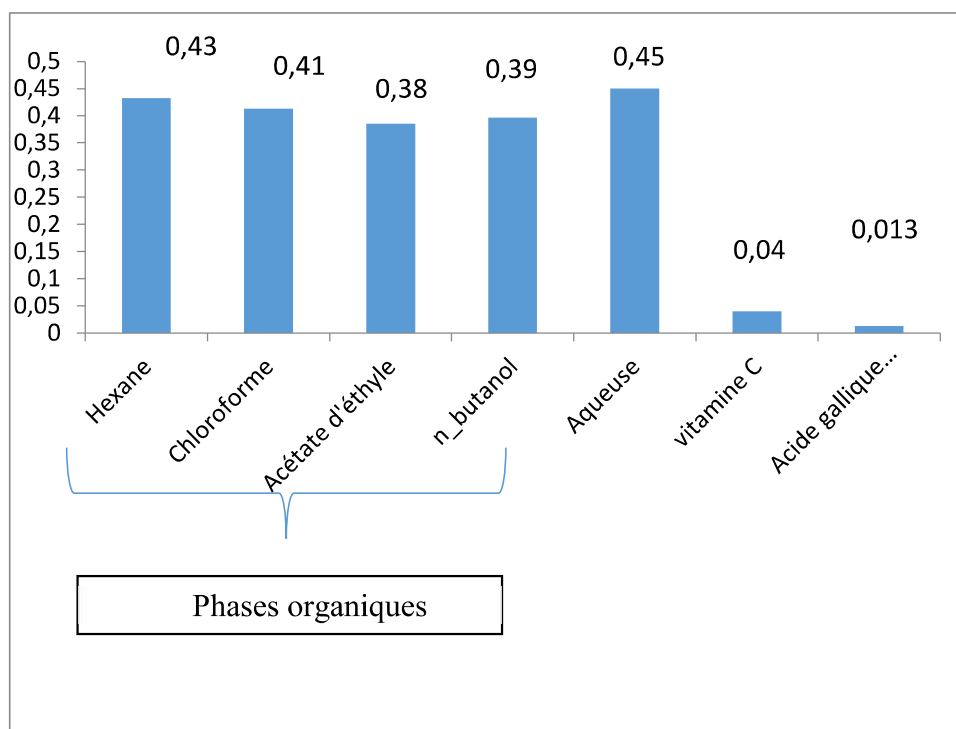


Figure 35: Valeurs d'EC₅₀ (en mg/ml) des fractions étudiées et des antioxydants de référence

Les valeurs des EC₅₀ des cinq fractions de l'amande de Balanites, de la fraction hexane, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et de la phase aqueuse sont de 0.43, 0.41, 0.38, 0.39 et 0.45 mg/mL.

La fraction acétate d'éthyle enregistre l'activité antioxydante la plus puissante avec un EC₅₀ de 0.38 suivie de la fraction n-butanol avec un EC₅₀ de 0.39 mg/mL. Alors que la phase aqueuse enregistre l'activité antioxydante la plus faible avec un EC₅₀ de 0.45 mg/mL. Quant à l'acide gallique et la vitamine C, elles enregistrent des activités antioxydantes les plus puissantes avec des EC₅₀ de 0.013 et 0.04 mg/mL, respectivement du fait que ce sont les antioxydants de référence. Par rapport, aux antioxydants de référence, nos cinq fractions ne sont pas puissantes comparées à elles.

Le suivi de la cinétique de la réaction nous a permis de déterminer la vitesse de réaction des extraits testés avec le radical DPPH•. Nous avons remarqué que le changement de la couleur du milieu réactionnel ainsi que diminution de l'absorbance est proportionnelle à la vitesse de la neutralisation du radical DPPH• (Fig. 36).

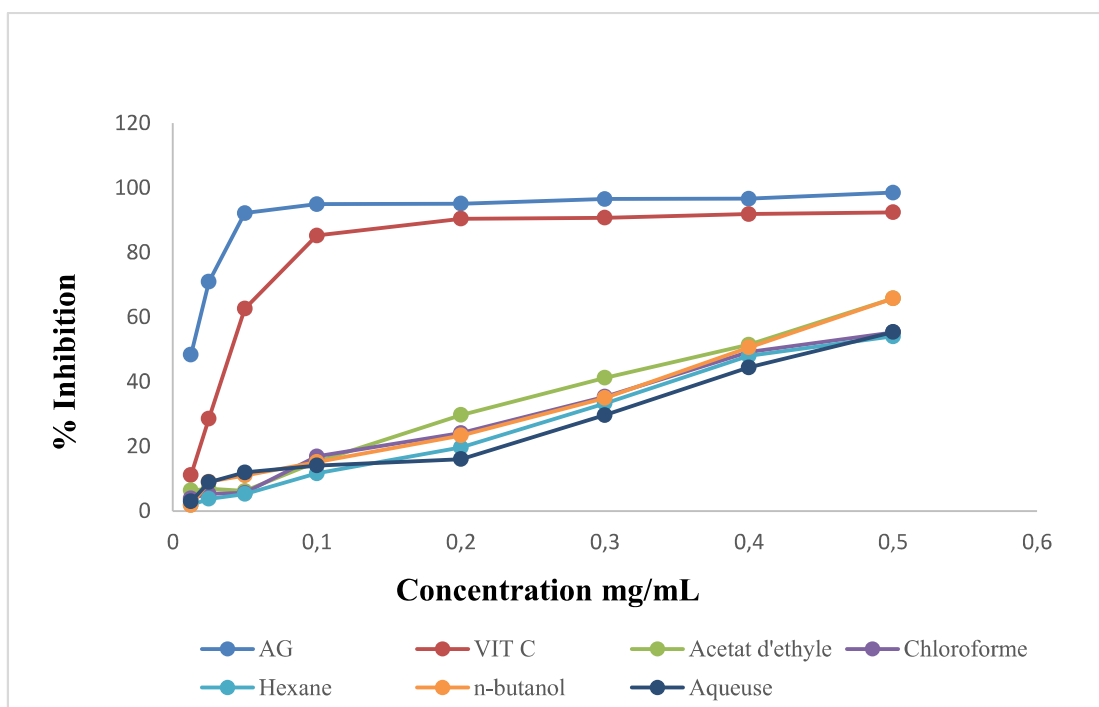


Figure 36 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• des cinq fractions de l'amande de Balanites.

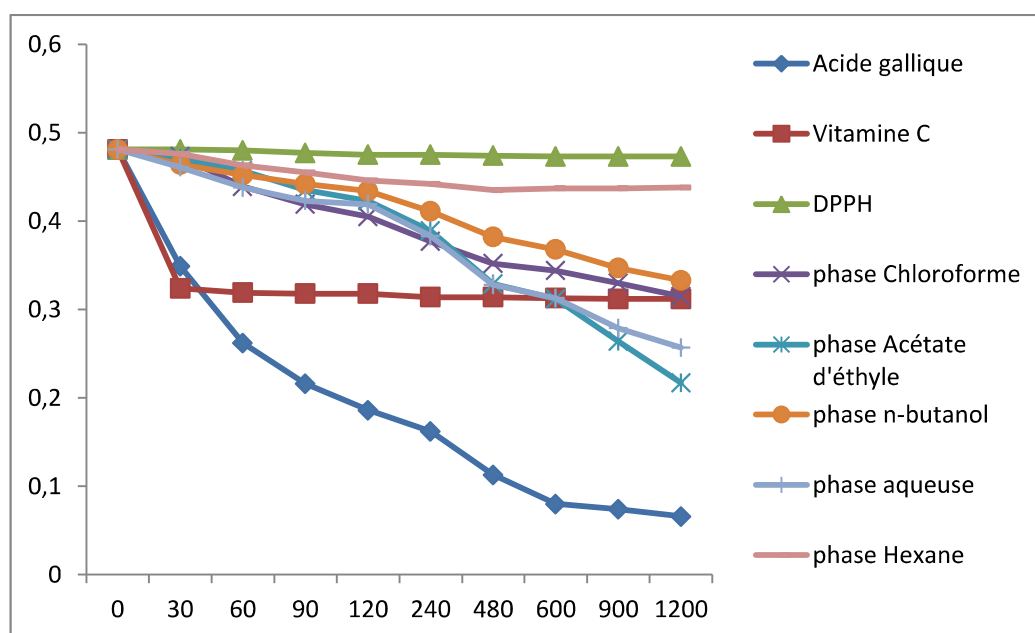


Figure 37 : Cinétique de réduction du radical libre de DPPH•

Comparés aux cinétiques de réaction des deux références utilisées, les cinétiques des cinq fractions étudiées sont lentes par rapport à la cinétique de réaction de l'acide gallique et la vitamine C.

Molyneux (2004), rapporte que plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvants, pH) et en particulier le profil phénolique de l'extrait.

Conclusion

Conclusion

Cette présente étude a consisté, à quantifier les composés phénoliques des amandes de *Balanites aegyptiaca* après une extraction **solide-liquide**, dans un mélange hydro-méthanolique, suivie d'une série d'extractions **liquide-liquide** dans différents solvants polaires et apolaires. Et d'évaluer le **pouvoir antioxydant** des cinq fractions obtenues, par la méthode au **DPPH**.

Les rendements d'extraction des fractions hexane, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et aqueuse sont respectivement de 1.05, 1.30, 1.05, 5.77 et 5.24 %.

Dans l'ensemble, il est à noter que les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes sont plus élevées dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol. Les teneurs des polyphénols totaux sont de 0.151 et 0.149 mg EAG/g MS dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol, respectivement. Et les teneurs des flavonoïdes sont de 0.020 et 0.030 mg EC/g MS dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol, respectivement comparées aux fractions apolaires. Par contre, les tanins condensés enregistrent les teneurs les plus élevées dans les fractions hexane et chloroforme de 0.036 et 0.034 mg EC/g MS.

L'activité antiradicalaire a été effectuée par le test au **DPPH**. La fraction acétate d'éthyle enregistre l'activité antioxydante la plus puissante avec un EC_{50} de 0.38 mg/mL suivie de la fraction n-butanol avec un EC_{50} de 0.39 mg/mL ce qui concorde avec des teneurs élevées de polyphénols totaux et flavonoïdes dans ces deux fractions. Alors que la fraction aqueuse enregistre l'activité antioxydante la plus faible avec un EC_{50} de 0.45 mg/mL.

En perspectives, il serait intéressant de compléter ce présent travail par :

- ✓ D'autres tests antioxydants : ABTS, FRAP et l'ORAC ;
- ✓ D'identification les molécules actives des différentes fractions par HPLC
- ✓ De déterminer d'autres activités biologiques (antidiabétiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires....) des extraits des amandes de *Balanites* et d'autres parties végétales du dattier du désert ;
- ✓ D'optimiser les procédés d'extractions en explorant d'autres méthodes d'extraction et d'autres systèmes de solvants ;
- ✓ Et de s'orienter dans un futur prochain vers les extractions vertes utilisant des technologies innovantes telles que les ultrasons et micro-ondes et des solvants alternatifs plus respectueux de la santé et de l'environnement.

Références
bibliographiques

- **Abdallah, E. M., Hsouna, A. B., & Al-Khalifa, K. S. (2012).** Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigation of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. edible fruit from Sudan. *African Journal of Biotechnology*, 11(52), 11535-11542.
- **Abou Khalil, N. S., Abou-Elhamd, A. S., Wasfy, S. I., El Mileegy, I. M., Hamed, M. Y., & Ageely, H. M. (2016).** Antidiabetic and antioxidant impacts of desert date (*Balanites aegyptiaca*) and parsley (*Petroselinum sativum*) aqueous extracts: lessons from experimental rats. *Journal of diabetes research*, 2016.
- **Aboura I., Nani A., Belarbi M., Babar M., Fluckiger A., Dumont A., Benammar C., Saidani Tounsi M., Ghiringhelli F., Rialland M., Naim Akhtar K., Hichami A.(2017),** Protective effects of polyphenolrich infusions from carob (*Ceratonia siliqua*) leaves and cladodes of *Opuntia ficus-indica* against inflammation associated with diet-induced obesity and DSS-induced colitis in Swiss mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 96, 1022–1035.
- **Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutases μ rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*. 74: 636–643.
- **Allais M. (2018),** Matériaux fonctionnels à base de polyphénols. Sciences agricoles. Université de Strasbourg, Français.
- **Amirouche Deghima A., Nadjat Righi B. , Noelia Rosales-Conrado c, María Eugenia Leon-González c , Faiza Baali b , Esther Gomez-Mejía c , Yolanda Madrid c , Fatiha Bedjou(2020) ;** Anti-inflammatory activity of ethyl acetate and n-butanol extracts from *Ranunculus macrophyllus* Desf. and their phenolic profile .
- **Arakawa, T., Timasheff, S.N. (1984).** Mechanism of Protein Salting In and Salting Out by Divalent Cation Salts: Balance between Hydration and Salt Binding. *Biochemistry*. 23, 5912-5923
- **Ardestani A, Yazdanparast R. (2007).** Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* in vitro protein glycoxydation, *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2402–2411.
- **Aron P. M. et Kennedy J. A. (2008).** Flavan-3ols: Nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research*. 52: 79-104.
- **Aruoma O.I., Murcia A., Butler J., Halliwell B. (1993).** Evaluation of the Antioxidant and Prooxidant Actions of Gallic Acid and Its Derivatives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 41 : 1880-1885.

- **Augustin S. (2003).** Les polyphénols des fruits et légumes un atout pour vieillir en bonne santé. INRA, Clermont-Ferrand. Baudin B. (2006). *Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. MT Cardio. 2 (1) : 43-52.*
- **Barkat, M., & Kadri, F. (2011).** Impact de deux modes de cuisson sur la teneur en polyphénols solubles de six légumes. *Revue de génie industriel, 6, 41-45.*
- **Bayle J.-P. (2006)** , «400 manipulations commentées de chimie organique volume 1», , Ellipses.
- **Ben Salah M. Hellali R. (2011).** Composition chimique des fruits de 15 cultivars tunisiens de palmier dattier (*Phoenix dactylifera*, L.). *FAO 148 :19-25.*
- **Benkhighe O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., Rochdi A. ET Douira A., (2011).**- Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraa Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Bot. Barc. 53, 191-216.*
- **Berge, Diallo, Hveem (2006)**, Les plantes sauvages du Sahel malien KARTHALA p.92 (ISBN 2845866054 et 9782845866058) accès sur google books (https://books.google.fr/books?id=zuz3qLCmeAsC&pg=PA92&lpg=PA92&dq=Balanites+s%C3%A9cheresse&source=bl&ots=I--cSh3Pfb&sig=7fgrlRGCfl400PjnHnhJDvudeA4&hl=fr&ei=E63wSZz7KJPLjAeip-zDDA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1#PPA92, M1).
- **Bernard A.S., Clède S., Emond M., Monin-Soyer H., Quérard J., Dunod, (2014).** Extrait de « Techniques expérimentales en chimie »,
- **Bougerra A. (1994)**, Le balanites, l'arbre intelligent du Sahel, Le Cafard Libéré, septembre.
- **Bounias (1983)** ; L'analyse biochimique quantitative par nanochromatographie en couche mince - Masson.
- **Boyer RF. (1986)**, Modern experimental biochemistry, Addison-Wesley Publishing Co, Reading (Mass., USA) p. 248-50.
- **Brune M, Hallberg L, and Skanberg AB, (1991).** Determination of iron-binding phenolic groups in foods. *J. Food Sci, 56 : 128–131 and 167.*
- **Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- **Cardot Claude. (2002)** - Techniques membranaires: Les traitements de l'eau: procédés physico-chimiques et biologiques. Cours et problèmes résolus. Paris, Ellipse Edition. *Chapitre V, p. 71 à 87.*

- **Catalano L., Franco I., Nobili M. and Leita L. (1999).** Polyphenols in olive mil waste waters and their depuration plant effluents: a comparison of the Folin-Ciocalteu and HPLC methods. *Agrochimica*, 43 : 193-205.
- **Chemat, Anne-Sylvie Fabiano-Tixier, Maryline Abert-Vian (2018)** ; extraction verte.
- **Chevallier M.-H. et al., (2003).** Biodiversité et multidisciplinarité : méthodologie pour les zones arides.
- **Chevallier MH, Vaillant A, Bensaid S, Sahki-Boutamine R, Diallo OB, Sanou J. Bouguedoura N, Babin D (2004).** Impact des pratiques humaines sur la conservation et la gestion in situ des ressources forestières : cas d'Acacia tortilis raddiana et de Balanites aegyptiaca. CSFD, *Rapport du projet n°57*. p. 68.
- **Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008).** Les polyphénols du raisin. Ed : Springer. 6 :75-82.
- **Chothani, . Vaghasiya, Harshad. (2011).** A review on Balanites aegyptiaca Del (desert date): Phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity. *Pharmacognosy reviews*. 5. 55-62. 10.4103/0973-7847.79100.
- **Claudine M., Augustin S., Christine M., Chhristian R., Liliana J. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition, *Volume 79, Issue 5, 1 May 2004, Pages 727–747*.
- **Cook et al.(1998)**, Nutrient content of two indigenous Plant foods of the werstern Sahel: Balanites aegyptiaca and Maerua crassifolia, *Journal of food composition and analysis* 11: 221-230,.
- **Creach P., (1940).** Le Balanites aegyptiaca (L.) Del., ses multiples applications au Tchad. *Rev. Bot. Appl. Agric. Trop.*, 20, 578-593.
- **Daas Amiour S., Alloui-Lombarkia, O., Bouhdjila, F. et al. Phytothérapie (2014) 12** : 135. <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0843-9>
- **Dangles O. (2012).** Antioxidant activity of plant phenols: chemical mechanisms and biological significance. *Current Organic Chemistry*. 16: 692-714.
- **Dangles O., Dufour C. (2006).** Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. Eds Andersen O. and Markham K. CRC Press, Boca Raton. *Chapter 9: p 443-469*.
- **Dangles O., Dufour C. (2008).** Recent advances in Polyphenol Research. *Chapter 3: 67- 87*.
- **De Wildeman.(1901) — Rev. Cult, trop.,2, 326.**
- **Dean RT, Fu S, Stocker, R, Davies MJ. (1997)** Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemi J*; 324 (Pt 1):1–18.

- **Derbel, S. & Ghedira, K., (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 3(1), pp.28–34.
- **Dhalla NS., Temsah R.M. and Netticadan T. (2000)** .Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J. Hypertens* , 18, 655-73.
- **Diallo A. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mali.
- **Diallo A-M. (2005).** Etude des plantes médicinales de Niafunke (région Tombouctou) : Photochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée). Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 125p.
- **Djemai Zoughlache S. (2008).** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna, Algérie
- **Drugeon S (2002);** Mémoire de l'École Nationale de la Santé Publique ; Ingénieur du Génie Sanitaire ; 24 septembre 2002.
- E UCCIANI Nouveau Dictionnaire des Huiles Végétales. Lavoisier TEC DOC. 1995, 67. *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology* 121: 360 -365.
- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 17: 501-512.
- **Ferhat M. (2009)** .Recherche de substances bio actives de *Centaurea microcarpa* Cass et *C. dur.* Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieure en biologie ; option ; biochimie à l'Université de M'sila.
- **Folin O Ciocalteu V. (1927).** On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 27, 627–650
- **Fortin D., Lô M. & Maynard G., (1997).** Plantes médicinales du Sahel. Dakar : Enda Éditions.
- **Fosset B., Lefrou C., Masson A., Mingotaud C., (2000),** «Chimie physique expérimentale», Hermann
- **Ghanemi, F. Z., Belarbi, M., Fluckiger, A., Nani, A., Dumont, A., De Rosny, C., ... & Lahfa, B. F. (2017).** Carob leaf polyphenols trigger intrinsic apoptotic pathway and induce cell cycle arrest in colon cancer cells. *Journal of functional foods*, 33, 112-121.
- **Groubert A. (1984).** Techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie. WROLSTD, Ronald E., ACREE, Terry., DECKER, Eric A., *et al* (ed). Handbook of food analytical chemistry, volume 1 : Water, proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates.
- **Gurbuz I., Yesilada E., Ito S (2009).** An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from

- **Ha T.J., Nihei K., Kubo I. (2004).** Lipoxygenase inhibitory activity of octyl gallate. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52: 3177–3181.
- **Hall JB (1992).** Ecology of a key African multipurpose tree species *Balanites aegyptiaca* Del. (Balanitaceae): *The state of knowledge. Forest Ecol Manag.*; 50:1–30.
- **Halliwell B. (1994).** Free radicals and antioxidants: *A personal view. Nutrition* 52: 253-265.
- **Hamidi A. (2013).** Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. *Mémoire de magister, Chimie organique, Université Kasdi Merbah (Ourgla)*, 111p.
- **Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007).** Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research*. 30: 0713. Hertog, MG; Kromhout, D; Aravanis, C; Blackburn, H; Buzina, R; Fidanza, F; Giampaoli, S; Jansen, A; Menotti, A; Nedeljkovic, S; Pekkarinen, M; Simic, BS; Toshima, H; Feskens, EJM; Hollman, PCH; Katan, MB. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven *countries study*. *Arch Int. Med* 1995, 155, 381–386. [Google Scholar].
- **Hartmann A., Niess A. (2000),** Oxidative DNA damage in exercise. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O, editors. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Amsterdam: Elsevier; p. 195–217.*
- **Hithamani, G., Srinivasan, K. (2014).** Effect of domestic processing on the polyphenol content and bioaccessibility in finger millet (*Eleusine coracana*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Food chemistry*, 164, 55-62.
- [https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/distillation/:text=La distillation est un processus, condensation par refroidissement.](https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/distillation/:text=La%20distillation%20est%20un%20processus,%20condensation%20par%20refroidissement)
- **Imperato P.J.; Traoré D.A., (1968).** Traditional beliefs about smallpox and its treatment among the Bambara of Mali. *J. Trop. Med. Hyg.*, 71, 224-228.
- **Ji, L. (2001).** Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928(1), 236-247.
- **Jimoh FO., Adedapo AA. and Afolayan AJ. (2010).** Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and chemical toxicology*, 48:3 2010 Mar pg 964-71
- **Justin N. Kabera¹, Edmond Semana¹, Ally R. Mussa¹ and Xin He. (2014)**

- **Kaboré-Zoungrana et al. (2008)**, Nutritive value of *Balanites aegyptiaca* as feed for ruminants, *Livestock Research for Rural Development*, volume 20, numéro 4, avril 2008 accès en ligne (<http://www.lrrd.org/lrrd20/4/kabo20056.htm>).
- **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006)**. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 : 165–177.
- **Kubo I., Masuoka N., Xiao P., Haraguchi H. (2002)**. Antioxidant activity of dodecyl gallate. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50: 3533-3539.
- **Levine S.G. (1990)** - Identification of Unknowns by Melting Point and Thin-Layer Chromatography in Combination - *J. Chem. Ed.*, 67, p. 972.
- **Leybros J., Frémeaux P. (1990)**. "Extraction solide-liquide aspects théoriques." techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 077 06." techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 077 06
- **Lisu. W; Jui-Hung, Y; Hsiao-Ling, L; Ming-Jiuan, W. (2003)**. Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66.
- **Lockett et al. (2000)**, Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural Fulani, Northeastern Nigeria. *International Journal of Food Science and Nutrition* 51: 195-208
- **Long H.S., Tilney P.M., Van Wyk B.-E. (2010)**. The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae). *South African Journal of Botany*. 76 (02): 167-420.
- **Makhloufi, A. (2008)**. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru (Doctoral dissertation).
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004)**. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- **Manach, C. et al., (2006)**. Consommation et disponibilité des polyphénols. Les polyphénols en agroalimentaire. P. Sarni-Manchado and V. Cheynier. Paris, *Lavoisier*, pp.361–380
- **Martin-Benlloch, X., Haid S., Novodomska, A., Rominger, F., Pietschmann, T., Davioud-Charvet, E. and Elhabiri M. (2019)**. Physicochemical Properties Govern the Activity of Potent Antiviral Flavones. *ACS Omega*, 4, 4871-4887.

- **Michelline M. (2009).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologiques de quelques lamiacée du Burkina Faso : Cas de leucas martinicensis (Jacquin) R. Brown, Hoslundia opposita vahi et orthosiphon pallidus royle ex benth. *Diplôme d'Etudes Approfondies, Université d'Ouagadougou.*
- **Micol V., Caturia N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L. et Estepa A. (2005).** The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Research. 66 : 129-136.*
- **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences, 27(4), 405-412.*
- Modern Practice of Gas Chromatography, Grob, Robert L., Ed. John Wiley & Sons, 1977, p. 228
- **Nacoulma O., (1996).** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du plateau central. Ouagadougou : Institut des Sciences Naturelles, Université de Ouagadougou. *Balanites Fruit Accessions Collected from Different Geographical Localities in Sudan. January –February 2017 RJPBCS 8(1) Page No.770-774.*
- **Naik, R. (2015).** GC-FID Analysis of Fatty Acids and Biological Activity of Zanthoxylumrhetsa (Roxb.)DC Seed Oil. *ORIENTAL Journal Of Chemistry, 31 (4), 1929-1935 National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. <http://plants.usda.gov>. Balanite aegyptiaca.*
- **Nani A. (2017).** Effets de polyphénols de mil sur le cancer de l'os et son mode d'action sur le système. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Agronomie, Option : « Nutrition », Uni. Abou BekrBelkaïd-Tlemcen.
- **Nani A. , Belarbib M., Babar M., Benammarb C., Merghoubd T., Riallanda M., Akhtar Khana N., Hichamia A.,** Polyphenols from Pennisetum glaucum grains induce MAP kinase phosphorylation and cell cycle arrest in human osteosarcoma cells. *Functional Foods 2019, 54, 422-432.*
- **Nkhili, E. Z. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat. Université Cadi Ayyad-Marrakech.
- Okia, Kwetegyeka et Okiror, «PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS AW) FATTY ACID PROFILE OF DESERT, » african crop society, vol. 21, pp. 723 - 734, 2013.

- **Oomah, B. D., Mazza, G., & Przybylski, R. (1996).** Comparison of flaxseed meal lipids extracted with different solvents. *LWT-Food Science and Technology*, 29(7), 654-658.
- **Othmer D. F. (1982),** A Century of Chemical Engineering, « Distillation - Some Steps in its Development».
- **Ouédraogo, S., Ranaivo, H.R., Ndiaye, M., Kaboré, Z.I., Guissou, I.P., Bucher, B., Andriantsitohaina, R., (2004).** Cardiovascular properties of aqueous extract from *Mitragyna inermis* (Willd). *Journal of Ethnopharmacology* 93, 345-350.
- P. H MENSIER. Dictionnaire des Huiles Végétales. Encyclopédie biologique ; Editions Paul Lechevalier. 1957, 75-76.
- **Pietta P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Production*. 63: 10351042. Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13 : 572584
- **Pincemail, J ; Defraigne, J.D. (2004).** Les antioxydants un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Service de Chirurgie Cardiovasculaire, Pro biox SA. Sart Tilman 4000 Liège, Belgique.
Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2 (2014) 377-392.
- **Podsedek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J. (2000).** Compositional characterisation of some apple varieties. *European Food Research and Technology*. 210 : 268272.
- **Pousset L., (1989).** Plantes médicinales africaines, utilisations pratiques. Paris : ACCT, 26- 29.
- **Pousset, L. (1992):** Plantes médicinales africaines. Possibilités de développement. Ellipses, 1992, Paris.
- **Pyrzynska K, Pekal A. (2013).** Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical methods*, 5, 4288–4295.
- **Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus D., Pouysegu L. (2011).** Plant Polyphenols :Chemical Properties,Biological Activites,and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3) :586 621,.
- **Reynes M, Bouabidi H, Piombo G, Risterucci AM (1994).** Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djerid en Tunisie. *Fruits*. 49(4):289-298.

- **Rezaire, A., (2012).** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). *Thèse de doctorat. Antilles-Guyane.*
- **Ribeiro M.A., Bernardo-Gil M.G. and Esquivel M., (2001).** Study of antioxidant activity in supercritical residues, *Journal of Supercritical Fluids*, 21 51 – 60.
- **Ricardo-da-Silva B., Spranger I. (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267-4274
- **Sabiha, Achat. (2013).** Dietary polyphénols : extraction, antioxidant activity and metal ion interaction.
- **Sagna M. ; Diallo A.; Sarr, Ndiaye, Goffner, Deborah Guisse. (2014).** Biochemical composition and nutritional value of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del fruit pulps from Northern Ferlo in Senegal. *African Journal Of Biotechnology*. 13. 336-342. 10.5897/Ajb2013.12395.
- **Sagna, Moustapha ; Niang, Khoudia ; Guisse, Aliou ;Goffner, Deborah. (2014).** *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile: Geographical distribution and ethnobotanical knowledge by local populations in the ferlo (North Senegal). *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*. 18. 503-511.
- **Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11.*
- **Savithamma, N., Linga Rao, M., and Suhurulatha, D. (2011).** “Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites.” *Middle-East J. Sci. Res.* 8: 579-84.
- **Schmidt L, Jøker D. (2001),** Forest Seed Centre, Seed Leaflet. No.21.
- **Schofield P., Mbugua, D. M., Pell A. N. (2001).** Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology*, 91(1-2), 21-40.
- **Sies, H. (1991),** Oxidative Stress: Introduction. In: Sies, H., Ed., Oxidative Stress: Oxidant and Antioxidants, *Academic Press, San Diego*, 15-22.
- **Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A.V., Boas V. (2010).** Secoiridoids in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. *Grassasy Aceittes*. 61 (02): 157-164.
- **Skoog, D. West Holler, (1997),** « Chimie analytique », 7ème éd. De Boeck Université.
- **Speroni, E., Cervellati, R., Innocenti, G., Costa, S., Guerra, M. C., Dall’Acqua, S., Govoni, P. (2005).** Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(1-2), 117-125.

- **Stalikas, C. D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids Review. *J. Sep. Sci.* 30, 3268 – 3295 Sun,
- **Sutradhar, R.K., Rahman A., Ahmad M., Bachar, S.C., (2008).** Bioactive flavones of *Sida cordifolia*. *Phytochemistry Letters* 1, 179-182.
- **Tayeau F., Faure F., Séchet-Sirat J.,(1955)** ,Etude sur le Soumpe (*Balanites aegyptiaca*). Valeur alimentaire de ses protéines. In : *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée, vol. 2, n°1-2, Janvier-février 1955. pp. 40-49*
- **Teh, S., Bekhit, A., Birch, J. (2014).** Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants*, 3(1), 67-80.
- **Tessier F., Marconnet P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science et Sports.* 10: 01-13.
- The wealth Of India, A Dictionary of Indian, Raw material and Industrial product, Publication and Information Directorate, Council of Scientific and Industrial research, New Delhi. 1998; 2:3.
- **Thomas M. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). *Thèse de Doctorat de l'université d'Orléans, École Doctorale Sciences et Technologies.*
- **Tiétiambou F.R.S., Bazongo P., Diallo A.D.A., Kouyaté A.M., Lykke A.M., Bassolé I.H.N., Ouédraogo A., (2015).** Production de l'huile de *Balanites aegyptiaca*. Fiche technique. Projet QualiTree.
- **Vazquez Roncero A., Janer del Valle G., Janer del Valle M.L., (1973).**déterminacion de los polifenoles totales delaceite de oliva. *Grasas Aceites*, 24(6),350-355
- **Verpoorte, R. (1998),** “Exploration of Nature’s Chemodiversity: The Role of Secondary Metabolites as Leads in Drug Development.” *Drug Discovery Today* 3 (5): 232-8.
- **Wiley, Sons, (2005).** Extrait de « Techniques expérimentales en chimie »,
- **Williamson, G., Manach, C. (1991),** WaUcer; Hall, «African Crop Science Society, » vol. 21, n° 13, pp. 723-734,. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. *Review of 93 intervention studies. Am. J. Clin Nutr* 2005, 81, 243S–255S. [Google Scholar]
- **Yadav JP, Panghal M. (2010),** *Balantes aegyptiaca* (L) Del. (Hingot): A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Green Pharmacy; 4(3):140-146.*

- **Yen G.C., Duh P.D., Tsai H.L. (2002).** Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Journal of Food Chemistry*. 79(3): 307-313.
- **Yilmaz Y. (2006).** Novel uses of catechins in foods. *Trends in Food Science and Technology*. 17: 64-71.
- **Zeriouh, W., Nani, A., Bellarbi, M., Dumont, A., de Rosny, C., Aboura, I., Apetoh, L. (2017).** Phenolic extract from oleaster (*Olea europaea* var. *Sylvestris*) leaves reduces colon cancer growth and induces caspase-dependent apoptosis in colon cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. *PloS one*, 12(2), e0170823.

المخلص

الهجليج هي شجرة تنمو بشكل أساسي في دول الساحل الأفريقي حيث يتم تقديرها بفضل اهتماماتها الغذائية واستخداماتها الطبية. في سياق تقييم هذه الأنواع الشجرية، تقوم هذه الدراسة في المرة الأولى، بتحديد المركبات الفينولية للهجليج بعد استخراج سائل صلب في الميثانول المائي، تليها سلسلة من الاستخراجات السائلة لخمسة أجزاء، هكسان، كلوروفورم، أسيتات الإيثيل، وقمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار دي بي بي اش وتبلغ كفاءة استخراج الهكسان والكلوروفورم وأسيتات الإيثيل والبيوتانول والبيوتانول والأكسور المائبة 1.05 و 1.30 و 1.05 و 5.77 و 5.24 في المائة على التوالي. يبلغ إجمالي البوليفينول 0.086 و 0.136 و 0.151 و 0.149 و 0.115 ملغ EAG/g MS على التوالي. مستويات الفلافونويد هي 0.007، 0.006، 0.02، 0.03، 0.001 ملغ EC/g MS، على التوالي. محتويات العفص المكثف هي 0.036 و 0.034 و 0.029 و 0.012 و 0.017 ملغ EC/g MS على التوالي. أظهر النشاط المضاد للأكسدة على أن جزء أسيتات الإيثيل هي الأقوى ب 0,38 ملغم/مل، يليه جزء البيوتانول ب ملغم/مل 0.39 وهو ما يتوافق مع المستويات العالية من إجمالي البوليفينول والفلافونويد في هذين الكسرين

الكلمات المفتاحية: الهجليج، التجزئة، البوليفينول، الطاقة المضادة للأكسدة

Résumé

Le *Balanites aegyptiaca* est un arbre qui pousse principalement dans les pays de l'Afrique saharo-sahélienne où il est apprécié grâce à ses intérêts nutritionnels et ses utilisations médicinales. Dans un contexte de valorisation de cette espèce arboricole, cette présente étude consiste dans un premier temps, à quantifier les composés phénoliques des amandes de *Balanites aegyptiaca* après une extraction solide-liquide dans un mélange hydro-méthanolique, suivie d'une série d'extractions liquide-liquide de cinq fractions, hexane, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et la fraction Aqueuse. Et d'évaluer l'activité antioxydante par le test au DPPH. Le rendement d'extraction des fractions de l'hexane, du chloroforme, d'acétate d'éthyle, du n-butanol et la fraction aqueuse, sont de 1,05, 1,30, 1,05, 5,77, 5,24% respectivement. Les teneurs des polyphénols totaux sont de 0,086, 0,136, 0,151, 0,149 et 0,115 mg EAG/g MS respectivement. Les teneurs des flavonoïdes sont respectivement de 0,007, 0,006, 0,02, 0,03 et 0,001 mg EC/g MS. Les teneurs des tanins condensés sont respectivement 0,036, 0,034, 0,029, 0,012 et 0,017 mg EC/g MS. L'activité antioxydante exprimée en EC₅₀ des cinq fractions est de 0,43, 0,41, 0,38, 0,39, 0,45, 0,013 et 0,04 mg/mL respectivement. Les fractions acétate d'éthyle et n-butanol ont les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les fractions de chloroforme et d'hexane ont les teneurs les plus élevées en tanins condensés. L'activité antioxydante exprimée en EC₅₀, a démontré que la fraction d'acétate d'éthyle est la plus puissante de 0,38 mg/ml suivie de la fraction n-butanol avec un EC₅₀ de 0,39 mg/mL ce qui concorde avec des teneurs élevées de polyphénols totaux et flavonoïdes dans ces deux fractions.

Mots clés : *Balanites aegyptiaca*, fractionnement, polyphénols, pouvoir antioxydant.

Abstract

Balanites aegyptiaca is a tree that grows mainly in the Sahel-African countries where it is appreciated thanks to its nutritional interests and medicinal uses. In a context of valorization of this arboreal species, this study consists in a first time, to quantify the phenolic compounds of the almonds of *Balanites aegyptiaca* after a solid-liquid extraction in a hydro-methanol, followed by a series of liquid-liquid extractions of five fractions, hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol and the aqueous fraction. And evaluate the antioxidant activity by the DPPH test. The extraction efficiency of the hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol and aqueous fractions are 1.05, 1.30, 1.05, 5.77, 5.24% respectively. The total polyphenols are 0.086, 0.136, 0.151, 0.149 and 0.115 mg EAG/g MS respectively. The levels of flavonoids are 0.007, 0.006, 0.02, 0.03 and 0.001 mg EC/g MS, respectively. The contents of the condensed tannins are 0.036, 0.034, 0.029, 0.012 and 0.017 mg EC/g MS respectively. The antioxidant activity expressed as EC₅₀ of the five fractions is 0.43, 0.41, 0.38, 0.39, 0.45, 0.013 and 0.04 mg/mL respectively. The ethyl acetate and n-butanol fractions have the highest levels of total polyphenols and flavonoids. The chloroform and hexane fractions have the highest levels of condensed tannins. The antioxidant activity expressed as EC₅₀, showed that the ethyl acetate fraction is the most powerful of 0.38 mg/ml followed by the n-butanol fraction with an EC₅₀ of 0.39 mg/mL, which is consistent with high levels of total polyphenols and flavonoids in these two fractions.

Keywords: *Balanites aegyptiaca*, fractionation, polyphenols, antioxidant power.