



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

Département : Technologie Alimentaire

Spécialité : Nutrition Humaine

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

القسم: التكنولوجيا الغذائية

التخصص: التغذية البشرية

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme Master Agronome

THEME

**Contribution à l'étude phytochimique et des activités biologiques
des extraits éthanoliques de l'*Annona cherimola***

Présenté Par : BERABOU Riad

Soutenu publiquement le : 16 / 07 / 2019

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

M. BENCHABANE Otmane

Professeur

ENSA

Président :

M. BENCHABANE Ahmed

Professeur

ENSA

Examineurs :

M. HAZZIT Mohamed

Professeur

ENSA

Mme. FERHAT Zoulikha

Professeur

ENSA

Promotion : 2016/2019

Table des Matières

NOTATIONS ET ABREVIATIONS.....	I
LISTE DES TABLEAUX.....	II
LISTE DES FIGURES.....	III
TABLE DES MATIERES.....	VI
INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
CHAPITRE I.....	3
1. GENERALITE.....	3
2. ANNONA CHERIMOLA	4
2.1. Noms vernaculaires.....	4
2.2. Taxonomie	4
2.3. Écologie	5
2.4. Origine et répartition géographique	5
2.5. Caractères morphologiques	5
2.6. Composition nutritionnelle.....	7
2.7. Constituants phytochimiques.....	8
2.8. Usages	8
3. CORPS GRAS	9
3.1. Triglycérides.....	9
3.2. Acides gras.....	10
3.3. Insaponifiables.....	12
PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	14
CHAPITRE II.....	14
1. GENERALITES	14
2. DIVERSITE STRUCTURELLE ET CLASSIFICATION DES POLYPHENOLS	15
2.1. Acides phénoliques simples.....	17
2.2. Les flavonoïdes	19
2.3. Les stilbènes.....	21
2.4. Les tanins.....	22
2.5. Anthocyanosides.....	24
2.6. Quinones.....	24
2.7. Lignanes et subérines.....	24

3. BIOSYNTHESE DES COMPOSES PHENOLIQUES.....	25
3.1. Voie de shikimate	25
3.2. Voie de phénylpropanoïde	25
3.3. Voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	27
4. PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES DES POLYPHENOLS	28
4.1. Solubilité.....	28
4.2. Absorption de la lumière ultraviolette (UV)	28
4.3. Propriétés de protection des plantes.....	28
4.4. Pigments végétaux et odorants	29
5. PROPRIETES BIOLOGIQUES DES POLYPHENOLS	29
5.1. Activité anti-inflammatoire.....	30
5.2. Activité antimicrobienne	30
5.3. Activité anticancéreuse	30
5.4. Activité antioxydante.....	30
PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	32
CHAPITRE III	32
1. STRESS OXYDANT.....	32
1.1. Historique	32
1.2. Définition	33
1.3. Origine du stress oxydatif	33
1.4. Les conséquences moléculaires du stress oxydant.....	34
1.5. Les maladies liées au stress oxydatif.....	35
2. OXYDATION	35
2.1. Définition	35
2.2. Mécanisme de l'oxydation	35
2.3. Principales espèces réactives	37
3. LES ANTIOXYDANTS.....	39
3.1. Définition	39
3.2. Mécanisme d'action	39
3.3. Différents types d'antioxydants	40
4. METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	43
4.1. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity).....	43
4.2. Piégeage du radical superoxyde (O_2^-).....	43
4.3. Piégeage du radical hydroxyle (HO)	44
4.4. Piégeage du radical peroxyde (ROO^\bullet) par la méthode de TRAP et ORAC	44
4.5. Réduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	45

4.6. Test de blanchiment du β -carotène	45
4.7. Méthode CUPRAC	45
4.8. Réduction du radical-cation ABTS	46
4.9. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH*).....	46
PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	47
CHAPITRE IV.....	47
1. INTRODUCTION	47
2. INFECTIONS BACTÉRIENNES	48
3. CULTURE DES BACTÉRIES	48
4. ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DES EXTRAITS DES PLANTES.....	48
5. ANTIBIOTIQUES.....	49
5.1. Cibles bactériennes des antibiotiques	49
5.2. Mode d'action des antibiotiques	49
5.3. Notion du bactériostatique et du bactéricide	50
5.4. Effet bactériostatique	50
5.5. Effet bactéricide	50
5.6. Résistance microbienne aux antibiotiques	51
6. DESCRIPTION DES BACTÉRIES ÉTUDIÉES	51
6.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
6.2. <i>Escherichia coli</i>	51
6.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	52
6.4. <i>Bacillus cereus</i>	52
6.5. Les salmonelles	52
6.6. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	52
7. PRINCIPALES MÉTHODES DE DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE.....	53
7.1. Méthodes de diffusion d'agar	53
7.2. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).....	53
7.3. Technique de diffusion en puits.....	54
7.4. Méthode de micro-atmosphère.....	54
PARTIE II : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	55
CHAPITRE I.....	55
1. MATÉRIELS	55
1.1. Matériel végétal	55
1.2. Matériel microbiologique.....	56
1.3. Milieux de culture	57

2. METHODES	57
2.1. Détermination de la teneur en matière sèche	57
2.2. Détermination de la teneur en eau	58
2.3. Extraction (au Soxhlet).....	58
2.4. Taux et Rendement de l'extraction	60
2.5. Analyses phytochimiques des extraits	60
2.6. Analyse qualitative de l'extrait de l'huile par CPG.....	62
2.7. Evaluation de l'activité antioxydant.....	62
2.8. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	65
2.9. Analyse statistique.....	69
 PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE	 70
 CHAPITRE II	 70
1. DETERMINATION DE LA TENEUR EN MATIERE SECHE ET EN EAU.....	72
2. TAUX ET RENDEMENT D'EXTRACTION.....	73
2.1. Taux d'extraits éthanoliques	73
2.2. Rendement d'extraction de l'huile.....	74
3. ANALYSES PHYTOCHIMIQUES DES EXTRAITS.....	75
3.1. Dosage des phénols totaux	76
3.2. Dosage des flavonoïdes	78
4. ANALYSE QUALITATIVE DE L'EXTRAIT DE L'HUILE PAR CPG	80
5. EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS ETUDIES.....	83
5.1. Evaluation de l'activité antioxydant.....	83
5.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne	91
6. ANALYSES STATISTIQUES	100
6.1. Dosage des Flavonoïdes	100
6.2. Dosage des Phénols Totaux.....	101
6.3. Activité de piégeage du radical DPPH	101
6.4. Activité de piégeage du radical ABTS	102
6.5. Corrélation (activité antioxydante – Teneur en Flavonoïdes et phénols totaux).....	102
 CONCLUSION GENERALE	 103
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	 106
 ANNEXES	 126
1 COMPOSITION DU MILIEU DE CULTURE.....	126
2. ANALYSE STATISTIQUE	126
2.1. Analyse de l'ANOVA (Flavonoïdes).....	126

2.2. Test de Tukey (Flavonoïdes)	126
2.3. Analyse de l'ANOVA (Phénols totaux)	126
2.4. Test de Tukey (Phénols Totaux).....	127
2.5. Analyse de l'ANOVA (DPPH).....	127
2.6. Test de Tukey ^a (DPPH).....	127
2.7. Analyse de l'ANOVA (ABTS).....	128
2.8. Test de Tukey ^a ABTS.....	129
3. CORRELATION.....	129

Introduction générale

ملخص

فاكهة القشطة، المعروفة باسم الشيريمويا، هي فاكهة إستوائية معروفة بطعمها اللذيذ ورائحتها المميزة. من خلال هذه الدراسة، تم استخراج مادة البوليفينول الإجمالية بواسطة أداة السوكسلي من اللب، القشرة، أوراق وبنور هذه الفاكهة، حيث أن معدل الإستخلاص المتحصل عليه يقدر بحوالي 35,90%، 27,00%، 24,45% و 20,26% على التوالي. كما تقدر محتويات الفينول الإجمالي ب 36,68؛ 22,26؛ 4,77؛ 3,36 ملغ مكافئ AG/غ مستخلص جاف من الأوراق واللحاء واللب والبنور على التوالي، بينما قيمة محتويات الفلافونويد هي: 11,02؛ 12,89؛ 1,65؛ 2,52 ملغ مكافئ Q/غ من المستخلص الجاف لنفس الترتيب من العينات. التحليل الكروماتوغرافي عن طريق CPG سمح لنا بتحديد وتقدير نسبة الأحماض الدهنية والمركبات الكيميائية التي يتكون منها مستخلص الزيت، بينت النتائج أن حمض اللينولينيك (3 ω) حمض اللينوليك (6 ω) وحمض الكابريك هي الغالبة في مستخلصات البنور، الأوراق، واللحاء على التوالي، أما بالنسبة لمستخلص اللب حسب دراستنا فلا يحتوي على الأحماض الدهنية. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة للشيريمولا بطريقتين مرجعيتين (DPPH و ABTS). بينت هذه الدراسة أن مستخلص البنور واللب يمتلكان نشاط منخفضاً للأكسدة، في المقابل يمتلك مستخلص الأوراق واللحاء على قوة فعالة مضادة للأكسدة. فيما يخص نشاط مضادات الميكروبات للعينات تم الاختبار من خلال دراسة نوعية (الحساسية) وكمية (MIC) على ستة أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض (ATCC) أظهرت النتائج نشاطاً مثيراً للاهتمام.

الكلمات المفتاحية: *Annona cherimola*، مستخلصات الإيثانول، البوليفينولات، الفينولات الإجمالية، الفلافونيدات، مكونات الأحماض الدهنية، نشاط مضادات الأكسدة، نشاط مضادات الميكروبات

Résumé

Annona cherimola, Communément appelé cherimoya, est un fruit tropical bien connu pour son goût et s'arôme. Dans la présente étude, les polyphénols totaux ont été extraits aux Soxhlet à partir de la pulpe, de la peau, des feuilles et des graines de ce fruit, où le rendement obtenu est de 35,90%, 27,00%, 24,45% et 20,26% respectivement. Les teneurs en phénols totaux sont de l'ordre 36,68 ; 22,26 ; 4,77 ; 3,36 mg eq AG / g d'extrait sec des feuilles, de l'écorce, de la chair et des semences respectivement, tandis que les teneurs en flavonoïdes sont : 11,02 ; 12,89 ; 1,65 et 2,52 mg eq Q/g d'extrait sec pour le même ordre des extraits. L'analyse chromatographique par CPG a permis l'identification et la quantification de la majorité des composés chimiques qui constitue nos extraits huileux, les résultats révèlent respectivement que l'A. Linoléinique (ω 3), l'A. Linoléique (ω 6) et l'A. Caprique sont majoritaires dans l'extrait des graines, des feuilles et de l'écorce, alors que l'extrait de la chair est pauvre en AG. L'activité antioxydante de cherimola a été évaluée par deux méthodes de référence (DPPH et ABTS). L'extrait des graines et de la chair présente une faible activité antioxydante, tandis que l'extrait des feuilles et de l'écorce a un pouvoir antioxydant puissant. L'activité antimicrobienne de nos extraits a été évaluée par une étude qualitative (Sensibilité) et quantitative (CMI) sur six bactéries pathogènes ATCC. Les résultats ont démontré une activité très intéressante.

Mots clés : *Annona cherimola*, Extraits éthanoliques, Composés phénolique, Phénols totaux, Flavonoïdes, Profil en Acide Gras, Activité Antioxydante, Activité Antimicrobienne.

Abstract

Annona cherimola, commonly known as cherimoya, is a tropical fruit well known for its taste and aroma. In the present study, total polyphenols were extracted with Soxhlet from the pulp, skin, leaves and seeds of this fruit, where the yield obtained was 35.90%, 27.00%, 24.45% and 20.26% respectively. The total phenol contents are of the order of 3,68 ; 22,26; 4,77 ; 3,36 mg eq AG / g dry extract of leaves, bark, flesh and seeds respectively, while flavonoid contents are: 11,02; 12,89; 1,65 and 2,52 mg eq Q / g of dry extract for the same order of the extracts. Chromatographic analysis by GPC allowed the identification and quantification of many of the chemical compounds that constitute our oily extracts, the results reveal respectively that the A. Linolenic (ω 3), the A. Linoleic (ω 6) and A. Capric are the majority in the extract of seeds, leaves and bark, lay that the extract of the flesh is poor in AG. The antioxidant activity of cherimola was evaluated by two reference methods (DPPH and ABTS). The seed and flesh extract have low antioxidant activity, while the leaf and bark extract have potent antioxidant power. The antimicrobial activity of our extracts was evaluated by a qualitative (Sensitivity) and quantitative (MIC) study on six pathogenic bacteria (ATCC). The results showed a very interesting activity.

Key words: *Annona cherimola*, Ethanolic extracts, Phenolic compounds, Total phenols, Flavonoids, Fatty acid profile, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.