



N° d'ordre 61/ 2014

UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques
Béni-Mellal

Centre d'Etudes Doctorales « Sciences et Techniques »
Formation doctorale « Ressources Naturelles, Environnement et Santé »

THESE

Présentée par

Fatima DEHBI

Pour l'obtention du grade de

Doctorat National

Spécialité : Chimie et Technologie Agro-alimentaire

**Valorisation du jus de la figue de barbarie (*Opuntia Ficus Indica L.*) Marocaine :
Caractérisation physico-chimique, propriétés antioxydantes et anticancéreuses,
stabilité des pigments et comportement rhéologique**

Soutenue le 22 novembre 2014 Devant la commission d'examen :

Pr. K. HABBARI	Président	Vice Doyen Chargé de la Recherche Scientifique- USMS- Béni-Mellal
Pr. A. BENYAICH	Rapporteur	Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad- Marrakech
Pr. A. OUSSAMA	Rapporteur	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni-MellaL
Pr. A. Boulli	Rapporteur	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni-Mellal
Pr. A. Jaouad	Co-directeur	Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad- Marrakech
Pr. A. Ouatmane	Co-directeur	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni-Mellal
Pr. A. Hasib	Directeur	Faculté des Sciences et Techniques - USMS - Béni-Mellal

AVANT PROPOS

▪ **Nom et prénom de l'auteur :** Fatima DEHBI

▪ **Intitulé du travail :**

« **Valorisation du jus de la figue de barbarie (*Opuntia ficus indica* L.) Marocaine : Caractérisation physico-chimique, propriétés antioxydantes et anticancéreuses, stabilité des pigments et comportement rhéologique** ».

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au Laboratoire de l'équipe : **Environnement et Valorisation Agro-ressources (EVAR)** de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal Université Sultan Moulay Slimane.

▪ **Noms et prénoms des directeurs de recherche :**

-Encadrant : Professeur Aziz HASIB (Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultane Moulay Slimane, Béni-Mellal).

-Co-Encadrant : Professeur Aaziz OUATMANE (Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultane Moulay Slimane, Béni-Mellal).

-Co-Encadrant : Professeur Abderrahim JAOUAD (Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech).

▪ **Principales Publications et Communications :**

A. Publications :

1. **Fatima Dehbi**, Aziz Hasib, Aaziz Ouattmane, Hicham El batal, Abderrahim Jaouad (2014). Physico-chemical Characteristics of Moroccan Prickly Pear Juice (*Opuntia ficus indica* L.). *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, ISSN 2250-2459, ISO 9001:2008 Certified Journal, Volume 4, Issue 4, April 2014.
2. **Fatima Dehbi**, Aziz Hasib, Mounir Tilaoui, Hicham El Batal, Naïma Zaki, Aaziz Ouattmane, Abderrahim Jaouad¹, Abdelmajid Zyad² (2013). Bioactive Constituents, Antioxidant Activity and in Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Moroccan Prickly Pear (*Opuntia ficus indica* L.) Juices. *Journal of Natural Sciences Research*, ISSN 2224-3186 (Paper) ISSN 2225-0921 (Online) Vol.3, No.14, 2013.

3. **Fatima Dehbi**, Aziz Hasib, Aaziz Ouattmane, Hicham El batal, Abderrahim Jaouad (2014). Fatima Dehbi, Aziz Hasib, Mohamed Bouaziz, Hicham El batal, Abderrahim Jaouad, Sami Sayadi (2012). Effect of phenolic compounds and betalain pigments on the antioxidant capacity of Moroccan prickly pear juices. « *Nature & Technology* » *Journal. B- Agronomic & Biological Sciences*, Issue n° 09/June 2013. Pages 02 to 07.
4. **Fatima Dehbi**, Aziz Hasib, Aaziz Ouattmane, Hicham El batal, Abderrahim Jaouad (2014). Optimization of Variables Influencing the Stability of Betaxanthin Pigments from Yellow Prickly Pears Juice by Experimental Design. *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, ISSN 2250-2459, ISO 9001:2008 Certified Journal, Volume 4, Issue 2, February 2014.
5. **Fatima Dehbi**, Aziz Hasib, Hicham El Batal, Naïma Zaki, Aaziz Ouattmane, Abderrahim Jaouad, Mohammed Naïmi (2013). Rheological Quality and Influence Factor of Moroccan Prickly Pear Juice (*Opuntia ficus indica* L.). *Food Science and Quality Management*, ISSN 2224-6088 (Paper) ISSN 2225-0557 (Online) Vol.22, 2013.

B. Communication orale :

1. **Fatima Dehbi**, Aziz Hasib. Antioxidant Activity and in Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Moroccan Prickly Pear Juices. Deuxième Workshop de Chimie sur la Chimie Moléculaire et Perspectives, le 28-29 Mai 2013 à Béni- Mellal, Maroc.

C. Communications par affiche :

1. **F. Dehbi**, A. Hasib, H. El Batal, A. Ouattmane, A. Jaouad. Study of variables influencing the stability of pigment from Moroccan Yellow prickly pears juice by experimental design. 2^{ème} Rencontre du congrès international sur chimométrie (RICH 2), on 8th -9th Octobre 2012 at Marrakesh, Morocco.
2. **F. Dehbi**, A. Hasib, A. Jaouad. Formulation of drinks juice from Moroccan prickly pears (*Opuntia ficus-indica*): physical-chemical characterisation and study of the stability of pigments depending on the treatment technology. Analytical Chemistry for Sustainable Development – ACS D 17th-19th March 2010, Mohammedia, Morocco.

3. **F. Dehbi**, A. Hasib, A. Ouattmane, H. El Batal, A. Jaouad, A. Boulli .Caractérisation physicochimique et biochimique et valorisation industrielle des fruits de figuier de bar barie marocain (*Opuntia ficus indica*). Troisième édition du congrès international sur l'amélioration de la production agricole APA3, le 17 – 18 Mars 2011 à Settat, Maroc.

4. **F. Dehbi**, A. Hasib, H. El Batal, A. Ouattmane, A. Jaouad. Study of variables influencing the stability of pigment from Moroccan Yellow prickly pears juice by experimental design. 2^{ème} Rencontre du congrès international sur chimométrie (RICH 2), on 8th -9th Octobre 2012 at Marrakesh, Morocco.

REMERCIEMENTS

Mes plus vifs remerciements vont d'abord à Monsieur le Président de l'Université Sultan Moulay Slimane et Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal. Qu'ils veuillent bien trouver ici mes vifs remerciements et mes profonds respects.

Je saisis cette occasion pour présenter mes vifs remerciements aux lecteurs attentifs de ce manuscrit les Professeurs : **K. Habbari**, **A. Oussama**, **A. Boulli**, **A. Ouatmane**, **A. Jaouad**, **A. Benyaich**, **A. Hasib** d'avoir qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail. Qu'il me soit permis de leur exprimer ma reconnaissance et mon respect.

Mes pensées se dirigent tout d'abord au Professeur **Aziz Hasib**, pour m'avoir accueilli et accepté de diriger ce travail avec beaucoup de patience et de présence. Il est à l'origine de cette étude ; il a mis à ma disposition les moyens matériels nécessaires et a assuré l'encadrement technique et scientifique de mes travaux de thèse. Qu'il soit remercié en premier pour sa grande disponibilité, son suivi continu, ses aides utiles, ses discussions fructueuses et ses conseils constructifs et précieux. La qualité de ses idées m'a permis d'atteindre la finalité de ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici mes vifs remerciements et mes profonds respects.

Ma profonde gratitude et mes sincères remerciements vont également à Messieurs **Aaziz Ouatmane**, professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal et **Abderrahim Jaouad**, professeur à la Faculté des Sciences Semlalia de Marrakech, pour l'encadrement et les conseils scientifiques dont ils m'ont fait bénéficier pendant la réalisation de ce travail. Leurs conseils prodigieux et leurs efforts considérables m'ont permis d'avancer dans cet axe de recherche.

Je tiens à remercier Mr. **Abdelmajid Zyad**, responsable de cette formation Doctorale, Mr. **Khalid Habbari**, Vice Doyen Chargé de la Recherche Scientifique et Mr. **Abderrazak El Harti**, Directeur du CED, à qui nous devons beaucoup, pour l'intérêt qu'ils portent au déroulement des activités de recherche au sein de la Faculté.

D'autre part, je transmets mes sincères remerciements au Pr. **Mohammed Naimi** pour l'aide et le temps qu'il m'a accordé au niveau de l'étude rhéologique et l'interprétation des résultats.

Je voudrais exprimer également ma reconnaissance au ***Hicham EL BATAL***, mon mari, pour l'aide et le temps qu'il m'a accordé pour la construction du plan d'expériences et l'interprétation des résultats.

Enfin, j'exprime toute mon affection et ma gratitude à ma famille (mes parents, mes frères...) pour leur patience et leur soutien indéfectible.

Je remercie également tous mes collègues du Centre de Recherche doctoral, pour m'avoir encouragée et pour les bons moments passés ensemble. Une mention particulière pour Madame **Zaki N.**, pour ses encouragements et la bonne ambiance qu'elle créait au laboratoire.

RÉSUMÉ

Le figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*.) est une plante fruitière qui présente de nombreuses potentialités écologiques, socio-économiques et industrielles. Ainsi, elle constitue une source prometteuse de pigments bétalaines naturels dont le pouvoir antioxydant leur procure une place importante parmi les colorants alimentaires, Cependant, son exploitation au niveau national reste très limitée.

L'objectif du présent travail est l'étude de l'influence des conditions expérimentales sur la stabilité des pigments dans les jus de figues de barbarie en utilisant la méthodologie de la recherche expérimentale.

Dans un premier temps, une caractérisation morphologique de son fruit puis une étude physico-chimique détaillée ont été réalisées. Ensuite, nous avons évalué les activités antioxydantes et anticancéreuses des différents extraits préparés à partir des fruits de cactus au niveau de huit régions de provenance représentatives du Maroc. Enfin, afin de comprendre le comportement du jus d'*Opuntia ficus indica* (*O.F.I*), nous avons réalisé une étude rhéologique.

Les résultats obtenus montrent que le jus extraits de ces fruits représentent une source riche en sucres, en polyphénols et en bétalaines. Le tracé des surfaces de réponses révèle l'existence d'un taux de rétention maximal de Betaxanthin de l'ordre de 79% pour une température de 76°C, un temps de 16.20 min et un pH (eau/pulpe) de 5.76.

La solution étudiée montre un comportement cisailleur - amincissant. Nous avons également observé une diminution de la viscosité effective avec la température, ce qui indique un comportement thermo-dépendant d'un tel jus.

Mots clés : *Figue de barbarie, Opuntia ficus-indica, bétalains, jus, composition physico-chimique, pigments, stabilité, méthodologie de la recherche expérimentale, comportement rhéologique, taux de cisaillement.*

ABSTRACT

Prickly pear (*Opuntia Ficus Indica. L.*) is a fruit plant, which presents numerous ecological, socio-economic and industrial potentialities. Hence, it constitutes a promising source of natural betalain pigments in which the antioxidant power procures an important place among limentary colorants. However, its exploitation on the national level is still very limited.

The objective of this work is the study of the influence of experimental conditions on the stability of pigments in prickly pears juice using the methodology of experimental research. First, a morphological caractérisation of its fruit and detailed physic-chemical study were realized. After that, we have evaluated the antioxidant and anticancer activities of different prepared extracts from cactus fruits at the level of eight Moroccan regions. Finally, in order to understand the performance of opuntia ficus indica juice, we have carried on a rheological study.

The obtained results show that these fruits juice represents a rich source in sugar, polyphenols and betalains. The trace of response surface reveals the existence a maximal rate of retention of betaxanthins of the order of 79% for a temperature of 76°C, a time of 16,20 min and a pH (water/ pulpe) of 5.76.

The studied solution shows shear-thinning behavior. We have also observed a decline in effective viscosity with temperature, which shows a thermo-dependent behavior of the juice.

Keywords: *Prickly pear, Opuntia ficus-indica, juice, physico-chemical composition, antioxidant, anticancer, phenolic compounds, pigments, stability, response surface methodology, Viscosity.*

ملخص

يعتبر الصبار من الفواكه المثمرة التي تحتوي على مجموعة من المؤهلات الأيكولوجية وسوسيو اقتصادية والصناعية. هكذا يشكل منبعا واعدة للصبغات *betalaines* الطبيعية التي تمنحها القدرة ضد الاكسدة مكانة مهمة بين الملونات الغذائية لكن استعماله يضل محدودا على الصعيد الوطني.

تدخل دراستنا هذه في إطار دراسة تأثير الظروف التجريبية على استقرار الصبغات في عصير الصبار مستعملين منهجية البحوث التجريبية للعوامل الثلاثة الأكثر تأثيرا والمتمثلة في درجة الحرارة، الوقت ثم درجة الحموضة pH وذلك عن طريق استعمال تقنية سطح مركب متمركز.

في المرحلة الأولى تم إنجاز تشخيصا مورفولوجيا لهذه الفاكهة متبوعا بدراسة فيزيوكيميائية مدققة. وبعدها قمنا بتقويم للأنشطة لمختلف المستخلصات لفواكه الصبار على مستوى ثمان مناطق مغربية. وأخيرا ولأجل فهم لريولوجيا عصير (F.I.O) تم إنجاز دراسة لزوجة لهذا الأخير وذلك باستعمال معدلات قص ودرجات حرارة ثم درجة حموضة مختلفة.

إن النتائج المحصل عليها تبين ان هذا المنتج يتميز بكونه منبعا غنيا بالسكر والبولي فينولات والصبغات *betalaines*. كما أن خطاطة السطوح تكشف عن وجود معدل احتفاظ عالي لصبغات *bétaxanthins* يقدر ب 79% مقابل 76° حرارية وزمن معالجة 16.20 دقيقة و 5.76 درجة حموضة.

إن المحلول المدروس أظهر سلوك قص-انحلاقي بحيث كلما ارتفع معدل القص في درجة حرارة معينة تناقصت اللزوجة الفعالة. كما لاحظنا أيضا تناقص اللزوجة الفعالة حسب درجة الحرارة مما يشير بالتبعية الحرارية لهذا المحلول.

الكلمات المفتاحية: الصبار، التركيبة الفيزيوكيميائية، مضادات الأكسدة والسرطان، البوليفينولات، الصبغات *betalaines*، التصميم التجريبي، عصير، لزوجة، الريولوجيا.

LISTE D'ABRÉVIATIONS

°Brix: Degré Brix

°C : Degré Celsius

μmol : Micromole

ABTS : 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) **DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Ac. Asc : acide ascorbique

Ac. citr : acide citrique

Ac. Isoasc : acide isoascorbique

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

ANOVA : Analysis of Variance (analyse de la variance)

cv : Cultivar

C.V : Coefficient de variation

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance

DMEM : Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMSO : Diméthylesulfoxyde

DOPA : 3,4 dihydroxyphénylalanine

DW: poids sec (dry weight) **TE**: Trolox

EDTA : acide éthylène diamine tétra acétique

GAE : gallicacidequivalent **ADN** : Acide désoxyribonucléique **ARN** : Acide ribonucléique

Ha : hectare

Ile : Isoleucine

K : coefficient de consistance (Pa.sn)

Leu : Leucine

Lys : Lysine

Met : Methionine **Phe** : phenylalanine

MF : matière fraîche

mM : Millimolaire

MPE : Méthodologie des plans d'expériences

n : indice d'écoulement

nm : nanomètre

O.F.I : Opuntia ficus-indica

PBS: Phosphate buffer salin **MTT**: 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazoliumbromide.

PPC : plan central composite

RMN : Résonance magnétique nucléaire

R² : Coefficient de corrélation

RSM : Méthodologie de la recherche expérimentale (Response surface methodology)

t/ha : tonne/ hectare **dh/ha** : dirham/ hectare **g** : gramme

Thr : threonine

Trp : Tryptophane

UV : Ultra-violet

Val : Valine

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1: Caractéristiques physiques des figues de barbarie par rapport aux autres récoltes</i>	12
<i>Tableau 2: Valeurs moyennes des acides aminés (en mg/100 ml) dans des jus d'opuntia.....</i>	14
<i>Tableau 3: Composition minérale du jus d'opuntia ficus indica selon son origine géographique (en mg/100g)</i>	16
<i>Tableau 4: Teneur en vitamines et antioxydants d'Opuntia spp : Raquettes et pulpe de fruits..</i>	20
<i>Tableau 5: Composition chimique des grains de figuier de barbarie.....</i>	24
<i>Tableau 6 : Facteurs influant sur la stabilité chimique des pigments bétalaines.....</i>	35
<i>Tableau 7: Caractéristiques géographiques des régions étudiées</i>	47

Publication 1:

<i>Table 1: Physico-chemical characteristics of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.....</i>	65
<i>Table 2: Physico-chemical characteristics of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.....</i>	67
<i>Table 3: Minerals content of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.....</i>	68

Publication 2:

<i>Table 1. Geographic of provenance of prickly pears fruits used in the study.....</i>	79
<i>Table 2: Characterization, pulp yield, acidity and sugar contents of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.....</i>	82
<i>Table 3: Total phenols, Flavonoids, Flavonols, Betaxanthins and betacyanins pigments antioxidant activity of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.....</i>	84

Publication 4:

<i>Table 1: Factors and experimental domain.....</i>	104
<i>Table 2: Experimental datasheet.....</i>	105
<i>Table 3: Calculation of the estimation of bi effects.....</i>	105

Publication 5:

<i>Table 1: Flow behavior index (n), consistency index (K) and corresponding linear regression coefficient (LRC) for different temperatures (T).....</i>	123
--	-----

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1 : (a) Pulpe et épiderme du fruit du figuier de barbarie, (b) graines isolées du fruit du figuier de barbarie femelles)</i>	06
<i>Figure 2 : Le figuier de barbarie : a) Plante et cladodes b) Épines c) Fleurs, d) Fruit.....</i>	07
<i>Figure 3 : Les principaux pays producteurs de figues de barbarie.....</i>	09
<i>Figure 4 : Les principales populations de cactus au Maroc</i>	10
<i>Figure 5 : Evolution des valeurs d'importations et exportations des produits de caroubier entre 2000 et 2010.</i>	23
<i>Figure 6: Structure chimique de l'acide bétalamique, Indicaxanthine et Bétanine).....</i>	25
<i>Figure 7 : Structure chimique de quelques bétaxanthines. Portulacaxanthine III, Portulacaxanthine II et la bétaxanthine 3-methoxytyramine.....</i>	26
<i>Figure 8 : Les chromophores non glycosilés des bétacyanines diffèrent seulement par le centre chiral C₁₅ (R=H)</i>	27
<i>Figure 9 : Comparaison des différents types de glycosylation. Bétanidine 5-O-glucoside (bétanine), bétanidine 6-O-glucoside (gomphrénine I) et la bétanine non glycosilée 2-descarboxy.....</i>	27
<i>Figure 10 : Evolution de la méthode des plans d'expériences.....</i>	36
<i>Figure 11 : Description du phénomène de type boîte noire.....</i>	37
<i>Figure 12: Domaine de variation d'un facteur défini par ses niveaux.....</i>	38
<i>Figure 13: Domaine d'étude pour un plan de deux facteurs à deux niveaux.....</i>	38
 Publication1:	
<i>Figure 1: Variation of the seed weight (SDW) of nine Moroccan prickly pears.....</i>	64
<i>Figure 2: Variation of fruit length (FL) and fruit diameter (FD) of nine Moroccan prickly pears.....</i>	64
<i>Figure 3: Variation of the fruit weight (FW), skin weight (SW), pulp weight (PW), core weight (CW) of nine Moroccan prickly pears.....</i>	65
<i>Figure 4. Variation of the yield of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.....</i>	65
 Publication 2:	
<i>Figure 1: Prickly pear (Opuntia ficus indica L.).....</i>	79
<i>Figure 2: Effect of prickly pear juices on cell viability of four cancer cell line.....</i>	86

Publication 3:

<i>Figures 14 : a) corrélation entre les polyphénols et l'activité antioxydante (DPPH), b) corrélation entre les polyphénols et l'activité antioxydante (ABTS), c) corrélation entre les bétaxanthins et l'activité antioxydante (DPPH), d) corrélation entre les bétaxanthins et l'activité antioxydante (ABTS).....</i>	94
---	----

Publication 4:

<i>Figure 1: Chemical structures of proline-betaxanthin/isoproline-betaxanthin (a), γ - aminobutyric acid-betaxanthin (b).....</i>	101
<i>Figure 2: UV-Visible absorbance spectrum of the methanolic extract of the yellow cactus pear juice.....</i>	103
<i>Figure 3: Bar chart of the factor screening results</i>	106
<i>Figure 4: Response surface plots and showing the effect of temperature T (X_1) and the pH (X_3) on the Rate of retention of the pigment.....</i>	108
<i>Figure 5: Response surface plots and showing the effect of length of heating time (X_2) and the pH (X_3) on the Rate of retention of the pigment.....</i>	110
<i>Figure 6: Response surface plots and showing the effect of temperature (X_1) and the length of heating time (X_2) on the Rate of retention of the pigment.....</i>	111

Publication 5:

<i>Figure 1: Prickly pear (<i>Opuntia ficus indica</i> L.).....</i>	126
<i>Figure 2. Torsion Couette viscometer used.....</i>	126
<i>Figure 3: Centrifuged prickly pear juice.....</i>	127
<i>Figure 4: Effect of shear rate (\dot{D}) on the apparent viscosity (η) of O.F.I solution for different temperatures.....</i>	127
<i>Figure 5: Evolution of the effective viscosity (η) with the temperature for different values of the shear rate.....</i>	128
<i>Figure 6: Variation of the consistency index (K) with the temperature (T).....</i>	128
<i>Figure 7: Variation of the behavior index (n) with the temperature (T).....</i>	129
<i>Figure 8: pH effect on O.F.I juice viscosity for different shear rates.....</i>	129

SOMMAIRE

- INTRODUCTION GÉNÉRALE :	1
Partie I.ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE :	4
I.1.Présentation générale du figuier de barbarie.....	5
I.1.1.Origine et diffusion	5
I.1.2.Anatomie	6
I.1.3.Biologie du figuier de barbarie	6
I.1.4.Espèces et variétés de figuier de Barbarie	8
I.1.5.Répartition géographique	9
I.1.6.Rôle écologique.....	10
I.1.7.Importance économique du cactus.....	11
I.2. Caractéristiques physico-chimiques des figues de barbarie	11
I.2.1.Caractéristiques morphologiques et physiologiques.....	11
I.2.2.Composition chimiques	12
I.3. Utilisation nutritionnelle et médicinale.....	18
I.3.1.Usage alimentaire.....	18
I.3.2.Usage médicinal	19
I.3.2.1.L'effet anti-cancer	19
I.3.2.2.Propriétés anti-oxydantes	19
I.3.2.3.L'effet anti-viral	20
I.3.2.4.L'effet anti-inflammatoire.....	21
I.3.2.5.L'effet anti-diabétique (typeII)	21
I.3.2.6.Effets anti hyperlipidémiques et hypercholestérolémiques	21
I.3.2.7.D'autres effets positifs sur la santé.....	22
I.3.3.Autres utilisations	22
I.3.3.1.Raquettes	22
I.3.3.2.Fruits.....	22
I.3.3.3.Graines.....	23
I.4. Les bétalaines :propriétés, sources, applications et stabilité.....	24
I.4.1.Structure des bétalaines.....	25
I.4.2.Bétalaines en tant que colorants.....	27
I.4.3. Sources des bétalaines végétales	28
I.4.4.Production biotechnologique de bétalaines.....	29
I.4.5.Extraction des bétalaine	30
I.4.6.Analyse des bétalaines	30
I.4.7.Facteurs influant sur la stabilité chimique de bétalaines	31

I.4.7.1.Effet de la structure et la composition	31
I.4.7.2.Effet du pH	31
I.4.7.3.Influence de l'oxygène	32
I.4.7.4.Effet de la lumière	32
I.4.7.5.Métaux	33
I.4.7.6.Les antioxydants	33
I.4.7.7.La température et la durée de traitement	34
I.4.8. Les propriétés antioxydantes de bétalaines	35
II.1. Généralité sur les plans d'expériences	36
II .1.1.Bref aperçu historique	36
II.1.2.Contexte d'utilisation.....	36
II.1.3.Objectif.....	37
II.1.4.Définitions	37
II.1.5.Types de plans d'expériences	39
II.1.6.Construction du plan d'expérimentation	40
II.1.6.1.Choix de la stratégie expérimentale	40
II.1.6.2.Choix du modèle	40
II.1.6.3.Choix de la matrice d'expériences	41
II.1.6.4.Définir le domaine expérimental.....	41
II.1.6.5.Conduite des essais	42
II.1.6.6.La température et la durée de traitement.....	42
II.1.6.7.La température et la durée de traitement.....	42
I.6. Conclusion	43
Partie II. ETUDE EXPÉRIMENTALE :	45
Chapitre I. Matériel et méthodes	46
I.1.Matériel végétal.....	47
I.2.Préparation des échantillons pour analyse.....	48
I.3.Détermination des caractéristiques physiques.....	48
I.4.Détermination des caractéristiques physico-chimiques	48
I.4.1.Détermination du pH	48
I.4.2.Degré brix (°Brix).....	48
I.4.3.Acidité totale.....	48
I.4.4.Teneur en matière sèche	48
I.4.5.Taux en cendres totales.....	49
I.4.6.Teneurs en sucres.....	49
I.4.7.Teneur en fibres	49
I.4.8.Protéines	49

I.4.9.Teneur en minéraux	49
I.4.10.Dosage des composés polyphénoliques.....	50
I.4.11.Dosage des des flavonoïdes totaux.....	51
I.4.12.Dosage des des flavonols.....	51
I.5.Evaluation de l'activité antioxydante	51
I.5.1.Test de piégeage du radical libre DPPH.....	51
I.5.2.Test d'ABTS.....	52
I.6.Evaluation de l'activité anti cancéreuse	52
I.6.1.Culture cellulaire	52
I.6.2.Test de cytotoxicité.....	53
I.7.Analyse des pigments bétalaines.....	55
I.8.Evaluation de la stabilité thermique des bétaxanthines.....	55
I.8.1.Effet du pH surla stabilité des bétalains	56
I.8.2.Effets de la présence des stabilisants des bétalains	56
I.8.3.Effet de la température sur la stabilité des bétalains.....	56
I.9.Analyses statistiques	56
Chapitre II : Caractérisation physico-chimique du jus de figue de barbarie.....	58
- Introduction.....	59
- Publication 1: Physicochemical Characteristics of Moroccan Prickly Pear Juice (<i>Opuntia ficus indica</i> L.)	60
II.1.Introduction	60
II.2. Materials and Methods.....	61
II.2.1.Raw Materials	61
II.2.2.Experimental Material	62
II.3.Result and Discussion	63
II.3.1.Physical and Chemical Characteristics of Cactus Fruit Juice.....	63
II.3.2.Minerals Content of Cactus Fruit Juice	68
II.3.3.Phenolic Contents of Cactus Fruit Juice	69
II.4.Conclusion	69
Chapitre III : Constituants bioactives, activité antioxydante et anticancéreuse du jus de figue de barbarie.....	74
- Introduction.....	75
- Publication 2: Bioactive Constituents, Antioxidant Activity and in Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Moroccan Prickly Pear (<i>Opuntia ficus indica</i> L.) Juices	76
III.1. Introduction	77
III.2. Materials and methods	78
III.2.1.Raw materials	78
III.2.2.Experimental material	79

III.3.Result and discussion	81
III.4.Conclusion.....	87
III.5.Étude de la corrélation entre la capacité antioxydante des différents jus d’Opuntia ficus indica et leurs teneurs en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et bétaxanthins (Extrait de la publication 3)	93
Chapitre IV: Optimisation des facteurs influençant la stabilité des pigments betaxanthin du jus de figue de barbarie par la méthodologie des plans d’expériences	97
- Introduction.....	98
- Publication 4: Optimization of Variables Influencing the Stability of Betaxanthin Pigments from Yellow Prickly Pears Juice by Experimental Design.....	99
IV.1. Introduction.....	100
IV.2.Materials And Methods.....	102
IV.2.1.Sample measurements	102
IV.2.2.Spectrophotometer analysis.....	103
IV.2.3.Statistical analysis.....	103
IV.3.Results And Discussion	104
IV.3.1.Screening design	104
IV.3.2.Optimization.....	106
IV.3.2.1.Predicted model and statistical analysis	106
IV.3.2.2.Response surface plot	107
IV.3.2.3.Effect of temperature and the pH	108
IV.3.2.4.Effect of time and the pH	110
IV.3.2.5.Effect of temperature and time of incubation.....	111
IV.3.2.6.Verification of predictive model.....	112
IV.4.Conclusion	112
Chapitre V: Etude des facteurs influençant la qualité rhéologique du jus de figue de barbarie	117
- Introduction.....	118
- Publication 5: Rheological Quality and Influence Factor of Moroccan Prickly Pear Juice (Opuntia ficus Indica L.)	119
V.1.Introduction	120
V.2.Materials and Methods	121
V.2.1.Experimental device	121
V.2.2.Production of juice and measurement of viscosity.....	122
V.3.Result and Discussion	122
V.3.1.Variation of the viscosity of O.F.I juice with the shearrate.....	122
V.3.2.Effect of temperature on viscosity of O.F.I juice.....	123
V.3.3.Influence of pH on O.F.I juice solution viscosity	124

V.4.Conclusion.....	125
- SYNTHÉSE ET DISCUSSION	132
- CONCLUSION GÉNÉRALE.....	141
- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	146

- Introduction Générale :

Le figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica* L.) est une plante qui appartient à la famille des cactacées regroupant 1600 espèces dont 180 du genre *Opuntia*. La plante peut atteindre 2 à 3 mètres de hauteur. Elle est largement présentée dans le paysage rural en plantations plus au moins régulières autour des villages notamment comme, haies limitant les parcelles et les vergers.

La culture du figuier de Barbarie constitue une excellente alternative pour la lutte contre les effets de la sécheresse, d'où son extension dans les régions arides où cette culture jouit d'un intérêt particulier grâce à ses diverses utilisations. En effet, cette culture contribue aussi bien à la mise en valeur des sols pauvres et leur protection contre l'érosion, qu'à l'alimentation du cheptel et la production des fruits. Elle est considérée comme une réserve vivante d'eau, puisqu'il a été démontré qu'un troupeau alimenté à base de cactus peut s'abstenir de boire pendant plus d'une année. De plus, les fruits ont une valeur nutritive comparable à celle des fruits juteux de type poire, pomme, abricot, orange, etc. Ils sont considérés comme une bonne source de vitamine C avec un apport énergétique important.

L'apport du cactus est encore plus édifiant en tant que source de produits pharmaceutiques et comme source de régime alimentaire (diététiques).

Au Maroc, la nouvelle stratégie du développement de l'agriculture concrétisée par le Plan Maroc Vert (PMV) est une véritable opportunité pour le développement des différentes filières liées au cactus, sachant que le PMV prévoit la consacrasson d'un million d'hectares pour des espèces fruitières peu exigeantes en eau, tel que l'olivier, le caroubier ou encore le cactus. Les superficies réservées à ce dernier au niveau de chaque région devront connaître une augmentation remarquable, notamment dans les régions de Guelmim-Smara (70 000 ha supplémentaires) et Rhamna (50 000 ha).

Le cactus marocain représente une très grande variabilité génétique, plusieurs cultivars existent et se distinguent par la période de floraison (précoce, tardive), la couleur de la fleur (jaune, orange et rose), la couleur du fruit et de la pulpe (verte, jaune, orange, rouge et pourpre), la forme des fruits (ovoïde, ronde ou oblongue), les caractéristiques organoleptiques des fruits [1] et la teneur en antioxydants [2,3].

En plus, la figue de barbarie constitue une source prometteuse de pigments bétalaines naturels dont le pouvoir antioxydant leur procure une place importante parmi les colorants alimentaires. En effet, Ces pigments peuvent être affectés par plusieurs facteurs au cours des processus de transformation comme le pH, la température, l'oxygène, la lumière, la durée de stockage et l'activité de l'eau [4,5,6].

L'intérêt croissant pour l'amélioration et la valorisation de cette culture au Maroc est justifié par ses retombées socio-économiques aussi bien au niveau de la production qu'au niveau de la transformation, en plus de sa réputation liée à sa qualité nutritive. En dépit de ses atouts, la culture de la figue de barbarie au Maroc reste très peu exploitée par les chercheurs marocains et constitue par conséquent un champ d'investigation justifié pour la recherche.

Sur la base de l'ensemble de ces considérations, le présent travail a été entrepris afin de générer des informations de base sur les fruits de cette culture à travers différentes régions du Maroc. Ainsi, il a pour objectif l'étude :

- de la composition physico-chimique ainsi que la qualité nutritionnelle et phytochimique du jus d'opuntia.
- de la stabilité des pigments betalains dans le jus de la figue de barbarie, particulièrement celle des bétaxanthines.
- du comportement rhéologique de jus en fonction des facteurs : température, temps et taux de cisaillement.

Dans la première partie de notre travail, nous avons réalisé une synthèse bibliographique pour faire le point sur aussi bien les caractéristiques de la plante que sur le fruit.

La partie expérimentale est subdivisée en cinq chapitres :

- La première porte sur la description du matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de notre étude pratique.
- Le deuxième chapitre est consacré à la caractérisation morphologique et physico-chimiques de la figue de barbarie Marocaine appartenant à neuf cultivars provenant des huit principales régions marocaines de production : *Skhour Rehamna*, *El Kelaâ*, *Tamellalet*, *Ras El ayn*, *Doukkala*, *Ben Guerir*, *Khouribga* et *Ait Baâmrane*.
- Le troisième chapitre a pour but de déterminer la composition en substances bioactives (les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les flavonols et les bétaxanthines) du jus des

figues de barbarie récoltées au niveau de huit régions marocaines. Une étude de l'activité antioxydante et anticancéreuse des jus a été également effectuée.

- Le quatrième chapitre de notre travail a été consacré à une étude de criblage et d'optimisation des facteurs influençant la stabilité des bétaxanthines du jus de la figue de barbarie.
- Dans le dernier chapitre, nous avons réalisé une étude rhéologique du jus de la figue de barbarie en fonction de la température, du pH et du taux de cisaillement.

Partie I :

Étude Bibliographique

Partie I : Étude Bibliographique :

I.1.Présentation Générale :

Opuntia ficus-indica (*O.F.I*) est un cactus originaire du Mexique introduit en Afrique du Nord au 17^{ème} siècle par les espagnols et essentiellement cultivé pour la production de ses fruits [7,8]. Les jeunes pousses sont également utilisées dans l'alimentation humaine (napolitos) au Mexique et dans le sud des Etats-Unis. En Afrique du Nord, l'*O.F.I* est cultivé d'une part pour prévenir l'érosion du sol dans les zones arides, et d'autre part en tant que substituant de fourrage pour l'alimentation animale pendant les périodes de sécheresse. On assiste également à un intérêt croissant pour l'exploitation de l'OFI dans des utilisations non alimentaires, essentiellement pour des applications médicales. L'extrait alcoolique de l'OFI présente des propriétés analgésiques et anti-inflammatoires [9]. Par ailleurs, l'introduction des cladodes de l'OFI dans un régime alimentaire présente des effets bénéfiques sur le taux de cholestérol sans effet secondaire sur les taux de glucose et de lipoprotéines dans le sang [10].

I.1.1.Origine et diffusion

Le genre *Opuntia* est originaire des zones tropicales du continent Nord-américain, en particulier du Mexique, où l'on a retrouvé des graines fossiles datant du septième millénaire av. J.-C. et indiquant l'utilisation alimentaire de l'espèce à l'époque préhistorique [11]. A l'époque précolombienne, cette espèce et d'autres Cactacées avaient une importance remarquable pour la survie des populations qui se trouvaient dans les régions comprises entre le Sud des Etats-Unis d'Amérique et le Mexique [12].

L'introduction de l'*Opuntia ficus-indica* en Europe date de la première moitié du XVI^e siècle et fut l'œuvre, comme pour beaucoup d'autres espèces végétales et animales, des colons espagnols. Par la suite, la Cactacée s'est répandue sur tous les continents, présentant des régions au climat chaud et aride ; Actuellement, elle est présente en formes spontanées ou cultivées plus ou moins importantes dans de nombreux Pays. En Australie et en Afrique du Sud, par exemple, elle est généralement considérée comme une mauvaise herbe en raison de la facilité avec laquelle elle se propage et des dégâts qu'elle provoque chez le bétail ovin ; tandis qu'au Brésil, en Tunisie et en Italie l'espèce est largement utilisée dans l'agriculture.

En milieu méditerranéen, le Figuier de Barbarie fait depuis plusieurs siècles partie intégrante du paysage des régions côtières et insulaires, comme en témoigne la facilité avec laquelle il s'est adapté à nos conditions climatiques.

I.1.2. Anatomie

D'un point de vue botanique, le figuier de barbarie est un fruit (baie) constitué de trois parties : l'épiderme (écorce), la pulpe et les graines [12,13,15] (figure 1). Donc, les fruits du figuier de barbarie peuvent être divisés en trois fractions qui peuvent être exploitées pour le traitement industriel: graines, écorce et pulpe.



Figure 1 : (a) Pulpe et épiderme du fruit du figuier de barbarie, (b) graines isolées du fruit du figuier de barbarie

I.1.3. Biologie du figuier de barbarie :

Le Figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*), est une plante de la famille des Cactacées (ou cactées). Celle-ci comprend entre 120 et 200 genres différents lesquels regroupent entre 1500 et 2000 espèces, exclusives des régions semi-désertiques tempérées chaudes et tropicales et de l'Amérique [16]. Appréciables pour leur valeur ornementale, les cactacées comportent également près de 250 espèces comme plantes fruitières ou « industrielles » [17].

Les cactacées sont des végétaux phanérogames appartenant à la classe des angiospermes, dicotylédones, polypétales. Ce sont des arbustes et des arbres vivaces, à tiges charnues, caliciflores, apparemment aphylls, qui peut atteindre de 3 à 5 mètres de haut (Figure 2.a). Ses feuilles sont en fait des "cladodes" également appelées "raquettes" d'après leur forme aplatie, de 30 à 40 cm de long sur 15 à 25 cm de large et de 1,5 à 3

cm d'épaisseur (Figure 2.a). Ces dernières ont le même rôle que les feuilles en ce qui concerne la photosynthèse. Les épines proprement dites, blanchâtres, clarifiées, solidement implantées, sont longues de 1 à 2 cm (Figure 2.b). Leurs fleurs sont à ovaire infère, rotacées, hermaphrodites avec une corolle de couleur jaune ou orange (Figure 2.c). Ces fleurs sont portées par les cladodes, à leur extrémité exposées au soleil.

Le fruit est une baie charnue, uniloculaire de couleur blanche, jaune ou rouge à la maturation, normalement doté de nombreuses graines dont le poids peut varier de 150 à 400 g. Sa couleur est variable selon les variétés : jaune, rouge, blanc... (Figure 2.d).



Figure 2 : Le figuier de barbarie : a) Plante et cladodes b) Épines c) Fleurs, d) Fruit.

Les racines sont généralement superficielles et facilitent ainsi l'absorption des eaux météoriques de faible consistance, mais en même temps, elles sont robustes et capables de coloniser de façon efficace les milieux difficiles. La capacité de colonisation des milieux de faible fertilité pédologique est améliorée par la possibilité d'accueillir dans les racines des micro-organismes fixateurs d'azote symbiontes.

La plante caractérisée par une remarquable adaptation à la sécheresse est une plante arborescente, érigée, rameuse et xérophile, son tronc ligneux, est formé par les vieux

articles (raquettes) qui en se desséchant, perdent peu à peu leur forme ovale pour devenir cylindriques. L'*Opuntia* s'adapte bien aux sols calcaires et aux climats semi-arides avec des températures moyennes de 18 à 30°C. De toutes les Cactées, le figuier de barbarie est l'une de celles qui supportent le mieux les conditions de vie les plus dures.

I.1.4. Espèces et variétés de figuier de Barbarie

Comme nous l'observons pour d'autres plantes, une même espèce de figuier de barbarie porte souvent des noms différents, selon la région, le pays où elle pousse. Il arrive aussi que plusieurs botanistes, croyant avoir affaire à un spécimen non répertorié, donnent un nouveau nom à une espèce déjà reconnue.

Au Maroc, comme pour les autres pays du Maghreb, les espèces de cactus les plus largement répandues sont : *Opuntia ficus indica*, *Opuntia dillenii*, *Opuntia vulgare* et *Opuntia compressa*. Les fruits de cactus font l'objet surtout de commerce local, ils sont présents sur le marché de juillet jusqu'à fin septembre. Il existe de nombreuses variétés de cactus qui se distinguent en deux groupes :

(i) Les cactus inermes qui sont souvent domestiqués et cultivés sur des surfaces limitées.

(ii) Les cactus épineux qui sont les plus répandus car ils résistent à la destruction par le bétail. Néanmoins, certaines années quand la sécheresse est trop forte et que le fourrage se fait rare, les dromadaires se rabattent sur les raquettes du cactus en dépit de leurs épines.

Des rameaux inermes issus de mutations de bourgeons ont été observés sur des Pieds inerme. En fait, il semble qu'il n'y ait pas de variétés absolument inermes mais à aiguillons plus ou moins rares, Il existe aussi tous les intermédiaires entre formes très épineuses et inermes avec des aiguillons plus ou moins longs et plus ou moins nombreux [18]. Chez les variétés dites inermes, les plants issus de semis sont épineux la première année et la deuxième année, les aiguillons disparaissent.

Le caractère épineux est dominant par rapport au caractère inerme, ce qui offre des possibilités de sélection des clones sans épines chez beaucoup d'espèce de cactus.

I.1.5. Répartition géographique

Le figuier de barbarie occupe une superficie évaluée à plus de 200.000 hectares des régions arides et semi-arides de plusieurs pays. Il s'agit essentiellement du Mexique (50.000 ha), du Maroc (45.530 ha), de l'Italie (2500 ha), de la Bolivie (1200 ha), du Chili (1100 ha) de l'Afrique du sud (1000 ha) et de l'Argentine (500 ha) (4) (figure 3).

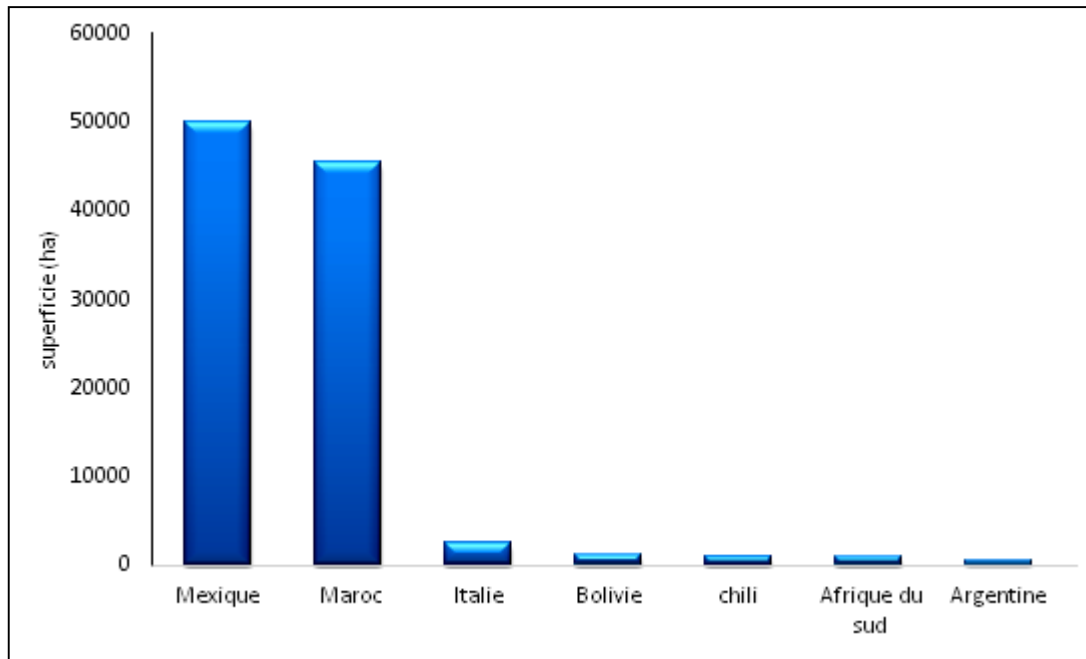


Figure 3 : Les principaux pays producteurs de figues de barbarie

Au Maroc, à l'exception des zones sahariennes et montagneuses, le figuier de barbarie est largement représenté dans le paysage rural marocain, en plantation plus ou moins régulières, autour des villages ou en haies limitant les parcelles de culture ou les vergers.

La principale population de cactus est localisée dans les régions de Tiznit, El Kelâa, Guelmim, Settat, Khouribga et Doukkala. Les autres plantations sont réparties entre Taza, Nador, Essaouira, El jadida, Safi et d'autres régions (figure 4).

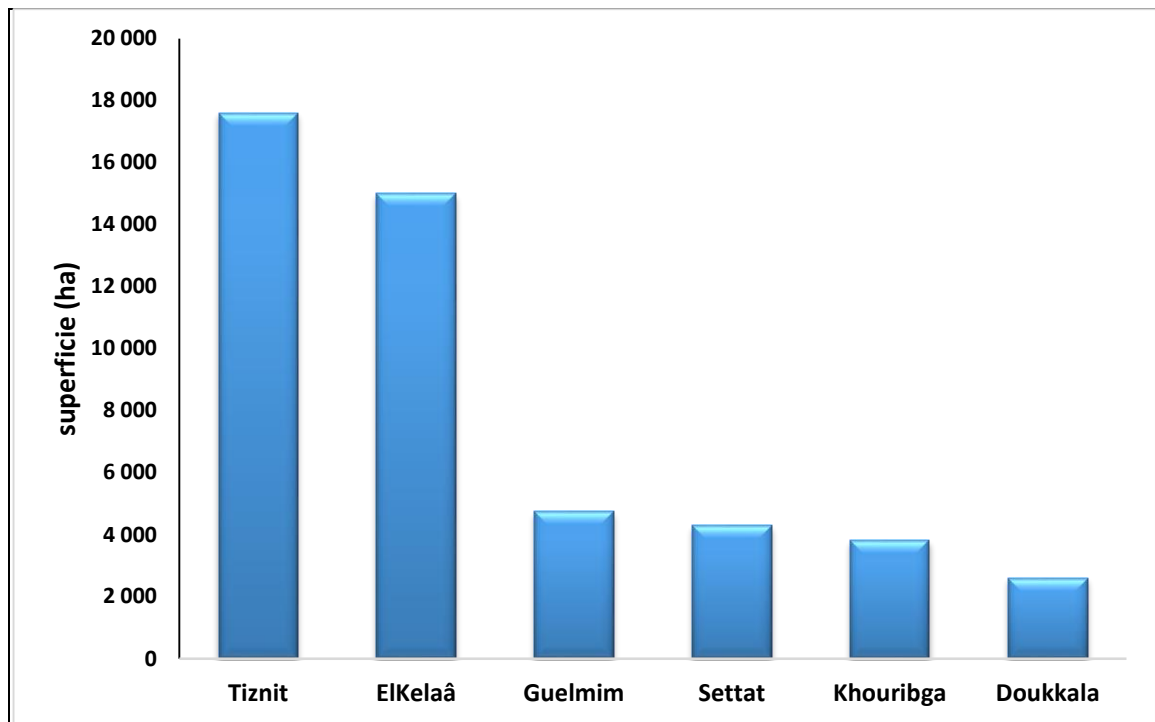


Figure 4 : Les principales populations de cactus au Maroc

Le cactus "*Opuntia ficus indica*" est la principale espèce qui s'est adaptée aux conditions locales pour donner différents cultivars dont on cite, entre autres : Moussa, Aissa et Achefri (Sidi Ifni), Rhamania (Rhamna), Doukalia (El- Jadida), El-Hadaouiya (Casablanca), Majdoubia (Mohammedia) et Eddallahia (Al-Hociema) [19].

I.1.6. Rôle écologique

La culture du cactus a suscité un regain d'intérêt particulier dans plusieurs pays en raison de son importance agronomique économique et écologique. En effet cette plante miracle a permis la mise en valeur des terres marginales et des zones arides et semi-arides où d'autres espèces cultivées végétaient difficilement. Son adaptation à divers climats et sols a permis à la plante de répondre efficacement lorsqu'elle est utilisée dans la lutte contre l'érosion, la conservation, la restauration et la valorisation des sols en plus de la régénération des espèces naturelles.

L'efficacité de l'utilisation du cactus pour la protection et la mise en valeur des sols sous des climats arides et semi arides a été démontrée dans plusieurs régions du monde. Les opuntias, en association avec d'autres espèces ligneuses, ont été aussi utilisés avec succès pour la fixation des dunes en Somalie et contre l'érosion dans plusieurs autres

pays. A Sidi Ifni au Sud du Maroc, les plantations des opuntias ont joué un rôle écologique important dans la lutte contre l'érosion et la conservation du sol [19].

I.1.7. Importance économique du cactus :

Quoique ses rendements en fruits sont variables d'un pays à un autre et d'une région à une autre la productivité du cactus a fait de cette plante l'une des plus rentables économiquement. En effet, en Italie le rendement moyen d'un verger âgé de 8 ans est de 12 à 30t/ha avec un revenu de 2000 à 6000\$USA/ha/an. Au Maroc les rendements obtenus varient de 8 à 25t/ha, selon les précipitations, et assurent un revenu annuel de 10.000 à 30.000dh/ha [19]. A Aït Baâmrane, province de Tiznit, le cactus est parfaitement intégré dans le système d'exploitation traditionnel de la région. Dans plusieurs Douars, la céréaliculture a été délaissée au profit du cactus qui constitue actuellement le pilier de l'économie familiale.

En plus de sa productivité, les multiples utilisations du cactus auraient davantage un impact supplémentaire sur le revenu des agriculteurs.

I.2. Caractéristiques physicochimiques des figues de barbarie

I.2.1. Caractéristiques morphologiques et physiologiques

Le fruit de figuier de barbarie (Fig. 2) est ovoïde, allant du blanc, vert, jaune-orange au rouge brique, basé sur la teneur des pigments bétalaines [20]. Ces fruits, d'un poids qui varie de 67 à 216 g [5], sont comestible, à condition d'enlever la couche extérieure (épiderme) dont les piquants à crochets causent des piqûres douloureuses. Cette partie du fruit représente entre 36 et 48 % du poids total du fruit. Il contient de nombreuses graines (3 à 7 % du poids total du fruit) presque sans albumen. La pulpe, rosée, assez sucrée, est fondante et légèrement parfumée avec un taux en pulpe qui varie de 39 à 64 % du poids total du fruit (Tableau 1)[14,15,21,22].

Tableau 1. Caractéristiques physiques des fruits de figue de barbarie

Paramètres	
Poids (g)	67 à 216
Gaines (MF)	3 à 7% du poids
Nombre de grains/ fruit	150 à 300
Ecorce (MF)	36 à 48% du poids
Couleur de l'écorce	vert, orange, rouge, pourpre
Pulpe (MF)	39 à 64% du poids
Couleur de la pulpe	blanc, jaune-orange, rouge, pourpre

I.2.2. Composition chimiques

La figue de barbarie est classée parmi les fruits exotiques, c'est un fruit juteux et parfumé, avec un arôme floral agréable. Elle possède une saveur douce et délicatement sucrée, sa pulpe est généralement constituée d'eau, des minéraux (calcium et magnésium), de vitamine C, d'acides aminés (proline, taurine, glutamine, sérine), polysaccharides, et de pigments (betaxanthines et bêta-cyanines) qui sont responsables de la couleur jaune et rouge de la pulpe [22].

La figue de barbarie possède une saveur douce et délicatement sucrée : elle renferme en effet 12 à 15 % de sucres totaux constitués en majeure partie de glucose et de fructose [24,25,26]. En effet, à cause de l'activité de l'invertase, le sucrose est principalement converti en sucres réducteurs, et se trouve en état de traces dans la pulpe [27,28]. Certains auteurs ont signalé la présence du galactose et du maltose [29,30]. Kuti et Galloway [28] ont remarqué une variation de l'activité enzymatique dans des fruits différemment colorés sans avoir fourni des informations sur leur origine botanique. Les différences dans l'activité relative de l'enzyme sont reflétées par les rations du saccharose, glucose et fructose dans l'épiderme et la pulpe. L'existence d'une corrélation entre la couleur de la peau et l'activité de l'invertase n'est pas encore

confirmée. Différents ratios de glucose et fructose ont été trouvés en fonction de l'activité de l'invertase, la couleur et l'origine du fruit. Des rapports relatifs de glucose et fructose de l'ordre de 1:1 ont été rapporté [28], alors que dans une autre étude, les auteurs ont rapporté des ratios de 11:1 respectivement pour le glucose et fructose [50]. Dans le cas des oranges, ce rapport est de 1:1 [31].

L'acidité du jus d'opuntia est due principalement aux acides citrique (62 mg / 100g) et malique (23.2 mg/100g) et, à moindre mesure, à l'acides quinique (19.1 mg/100g), tandis que les acides isocitrique, fumarique, glycolique et succinique sont détectés en état de traces seulement [30,32]. Cette acidité, généralement entre 0.05 et 0.18 % d'acide citrique [14], se traduit par un pH entre 5.3 et 7.1 [33], c'est une caractéristique principale des figues de barbarie ($\text{pH} \geq 4,5$), elle les classe parmi les aliments faiblement acides. L'acidité du jus des figues de barbarie est très basse en comparaison avec celles d'autres jus de fruits tel que les poires (0,3 %), les oranges (0,8 %), les pommes (0,9 %), les pêches (0,9 %), les fraises (0,9 %), les ananas (1,1 %), les framboises (1,8 %), les prunes (2,2 %) et les abricots (2,4 %) [21].

Les figues de barbarie représentent aussi une source de **fibres alimentaires** qui peuvent atteindre 3,1 % [21,32,34,35]. Les fibres alimentaires des fruits de *l'Opuntia ficus-indica* sont composées de fibres insolubles : cellulose, hémicellulose et lignine [27]. Ainsi, les fibres alimentaires jouent un rôle important dans la prévention contre certaines maladies telles que la constipation, le diabète, l'obésité et les maladies cardiovasculaires [36]. Aussi, ils aident à la réduction de la glycémie et le cholestérol du plasma [37-38].

Le mucilage est un polysaccharide complexe constitué principalement d'arabinose, galactose, xylose, acide galacturonique et de rhamnose. En raison de son capacité élevée de rétention d'eau, il est considéré comme un hydrocolloïde, et peut être utilisé comme épaississant, agents émulsifiants ou colloïdes gélatineux. Le mucilage de cactus peut remplacer d'autres épaississants comme le carboxymethyl-cellulose [39].

Habibi et al [31] ont étudié la composition en polysaccharides de la pelure de cactus, leur caractérisation a révélé la présence de galactose et d'arabinose avec un rapport de 6.3:3.3. L'extrait éthanoïque des cladodes frais d'*opuntia dillenii*, a montré une activité scavenger du radical (DPPH) élevée. Trois nouveaux composés : opuntioside 1, 4-

ethoxyl-6-hydroxymethyl-alpha-pyrone, et kaempferols 7-O-beta-D-glucopyranosyle (1-->4)-beta-D-glucopyranoside, ont été isolés dans cet extrait [40].

La majorité des études indiquent que le fruit de l'*Opuntia ficus-indica* contient 0,09 à 0,7 % de **lipides** [21,30,41]. Grâce à cette faible teneur, la figue de barbarie peut être considérée comme un aliment naturel diététique.

Ces **lipides** sont présents dans l'écorce, la pulpe et les graines. Les lipides existent dans l'huile des graines avec un taux appréciable de 98.8 g/kg de poids sec [42,43]. Les acides et les stérols les plus prédominants sont : l'acide linoléique, palmitique aussi bien que l'acide oléique, β -sitostérol et campestérol, respectivement. Alors que les tocophérols (vitamine E) et le β -carotène sont faibles en comparaison avec l'huile de pulpe [43,44].

Ces mêmes auteurs ont constaté que dans l'huile de la pulpe, les acides α et β -linoléiques sont majoritaires tandis que dans l'huile de graines, ils étaient détectés à des taux faibles.

La teneur des lipides présent dans l'huile de graines d'opuntia est comparable à celle rapportée pour la graine de raisin ou au pétrole de germe de maïs [45,46].

Les fruits de l'*Opuntia ficus-indica* contiennent une teneur appréciable en **protéines** qui se situe entre 0.2 et 1.6% [33], la composition de ces protéines montre une richesse en certains acides aminés essentiels notamment (Thr, Val, Leu, Ile, Lys, Met, Phe, Trp) [27]. La proline est l'acide aminé prédominant de la fraction protéique de la pulpe d'opuntia (883.4 à 1929.1 mg/L) suivie par la taurine (323,6 à 434,3 mg / L), la glutamine (98,3 à 574,6 mg / L) et la serine (130,6 mg / L à 392,6 mg / L) [15,33,47]. Les plus hauts taux de taurine ont été trouvés dans les algues avec 998,7 nmol.g⁻¹ chez Rhodophyta et 132,6 nmol.g⁻¹ chez Phaeophyta [48]. Les noisettes (46 nmol.g⁻¹), les semences et les graines légumineuses (>100nmol.g⁻¹) sont des sources supplémentaires de taurine [49,50].

Tableau 2. Valeurs moyennes des acides aminés (en mg/100 ml) dans des jus d'*opuntia* [3,30,32].

Acides Aminés	(mg/L MF)
Alanine	87,2
Arginine	30,5
Asparagine	41,6
Acide Glutamine	66,1
Glutamine	346,2
Glycine	11,33
Histidine	45,2
Isoleucine	31,2
Leucine	20,6
Lysine	17,4
Méthionine	55,2
Phénylalanine	23,3
Serine	174,5
Threonine	13,3
Tyrosine	12,3
Tryptophane	12,6
Valine	39,4
Carnosine	5,9
Citrulline	16,3
Proline	1265,2
Taurine	434,3

Dans un travail élaboré par [Stintzing et al.\[30\]](#), les valeurs détectées étaient, en particulier, très significatives pour le proline, glutamine et taurine, respectivement 1768,7, 574,6 et 572,1 mg.l⁻¹. Ces valeurs détectées sont largement supérieures aux teneurs moyennes obtenues pour d'autres fruits à l'exception des raisins de table et des agrumes qui contiennent approximativement les mêmes teneurs. L'importance diététique du taurine a été soulignée [\[51\]](#). Dans les cas où les prises de méthionine ou

cystéine et vitamine B6 sont limitées, la prise du taurine devient conditionnelle. De plus, le taurine est un antioxydant fort.

La concentration totale des **sels minéraux** du jus d'opuntia dépend fondamentalement de l'origine géographique des figuiers de barbarie, des conditions édapho-climatiques dans le site de culture et aussi du degré de maturation des fruits [13,52]. Ainsi, les jus de cactus provenant d'une même région ont des teneurs en cendres totales qui ne varient que très peu, tandis que les teneurs en cendres des jus préparés à partir de figuier de régions géographiques différentes sont très variables (Tableau 3) [27,53,54].

Tableau 3: Composition minérale du jus *d'opuntia ficus indica* selon son origine géographique (en mg/100g) [27,53,54].

Eléments	Egypte	Espagne	Germany
Potassium	782.8	1583	559
Calcium	385.2	263	163
Magnésium	230.8	251	76.1
Phosphore	340.9	-	0.063
Sodium	60.4	6.25	7.77
Cuivre	0.192	0.389	<0.78
Fer	12.8	1.98	16.5
Zinc	8.2	2.05	1.55

Bien que le jus d'opuntia contient un grand nombre de minéraux à l'état de trace, le potassium (900 à 2170 mg par 1Kg), le calcium (jusqu'à 590 mg par 1Kg) et le magnésium (jusqu'à 984 mg par 1Kg) ; sont les minéraux les plus abondants dans ce produit [11,32]. Leurs concentrations dépendent de la période de récolte des matières premières. En général, la teneur en minéraux des figues de barbarie a tendance à diminuer à mesure que la saison avance [55].

Il est composé également du phosphore qui ne dépasse pas 320 mg par 1Kg, du sodium (entre 6-11 mg/kg), du fer (4-15 mg/kg), du cuivre (0.3-6 mg/kg), du zinc (jusqu'à 0,48 mg/Kg.) et des traces d'autres minéraux tels que le Chrome (0.11mg/kg) [13,29,53,56].

La couleur des figuiers de barbaries est principalement due aux **pigments bétalaines** [57]. La teneur en pigment de la pulpe de fruits de cactus peut varier d'environ de 66 à 1140 mg/kg [20,58]. Ces teneurs sont très variables selon l'origine, le cultivar et le degré de maturation ainsi que les conditions d'extraction utilisées. En plus de la nuance de couleur, les pigments bétalaines ont montré des propriétés antioxydantes supérieures à celles de l'acide ascorbique [20,59].

Les fruits de figue de barbarie fournissent des apports variés et intéressants en vitamines. Ils sont considérés comme une bonne source de vitamine C avec un apport énergétique important. Ils ont une haute teneur en **vitamine C** (12 à 81 mg/100 g) comparable à celle des autres fruits et légumes tels que la banane (18,65 mg/100g), grenade (34.14mg/100g) chou (35.55mg/100g), carotte (29.92 mg/100g) [60]. Il est important de noter que la teneur en vitamine C dans les fruits de cactus pourrait avoir été due à la présence de l'acide déhydro-ascorbique. Ils contiennent également la provitamine A et la vitamine E. En raison de leur teneur relativement élevée en vitamine C, en vitamine E, en provitamine A, ainsi qu'en flavonoïdes, ces fruits peuvent constituer un additif alimentaire de grande valeur.

Les caroténoïdes, thiamine, riboflavine, niacine et les vitamines B1 et B6 sont trouvés seulement en état de traces (tableau 4, page 20) [30,61].

Le dosage des polyphénols totaux dans les fruits de figuier de barbarie révèle des teneurs en polyphénols allant de 138 à 670 mg GAE/L du jus [20,62]. Ce résultat est la preuve que ce produit renferme une quantité importante de polyphénols totaux, car **Celil Toplu et al.** ont montré en 2009 [63], que pour les figues de Turquie, la teneur varie de 19.4 à 49.4 mg d'acide gallique équivalent/g de matière sèche. D'autres études réalisées sur l'espèce *Opuntia ficus indica* ont montré que les teneurs en polyphénols totaux sont plus importants dans la peau que dans la pulpe du fruit [27].

Kuti et al. [64] ont révélé un effet antioxydant dans les fruits de cactus dû à la présence des flavonoïdes, ces derniers sont constitués de flavonols aglycones (quercétine, kaempferol et isorhamnetin (tableau 4, page 20)).

Dans certaines études scientifiques, ce sont plutôt les effets protecteurs du nopal qui sont décrits : une étude réalisée par **Maataoui et al.** [65] a décrit les propriétés

antiradicalaires du figuier de barbarie. Ils ont retrouvé plusieurs composés à activité antioxydante dans le fruit. Ainsi, les composés phénoliques, flavonoïdes et pigments ont révélé un potentiel de capture de radicaux libres plus élevé que celui de la vitamine C [65]. Cette qualité peut être considéré comme étant un puissant antioxydant [66,67].

I.3. Utilisation nutritionnelle et médicinale

En plus de ses qualités nutritionnelles les propriétés pharmacologiques et médicinales de cactus et ses dérivés augmentent l'intérêt de leurs utilisations dans le domaine de santé [68].

I.3.1. Usage alimentaire

Le cactus a longtemps été considéré comme une source nutritionnelle importante en Amérique latine où l'opuntia a gagné une importance économique considérable. Il est cultivé dans plusieurs pays tels que le Mexique, l'Argentine, le Brésil, la Tunisie, le Maroc, l'Italie, Israël et la Chine. Les fruits et les raquettes ont été considérés comme propres pour la consommation alimentaire [69]. Les raquettes servent également de fourrage pour les animaux et pour l'hébergement de la cochenille *Dactylopius* exploitée pour l'extraction de pigments (dérivés d'antraquinone) [70].

Pendant les périodes de sécheresse, les raquettes de cactus *Opuntia ficus* jouent un rôle important dans l'apport de nutriments précieux pour l'élevage bovin, ovin et animaux de trait. En se nourrissant de cactus sans épine seuls des quantités limitées d'aliments conventionnels tels que le foin et de la paille sont nécessaires [71]. L'utilisation de cactus comme un complément au fourrage conventionnel dans la production de viande animale est courante pendant la saison sèche dans certains pays comme la Tunisie, le Maroc, le Brésil et le Mexique, [72,73]. La digestion de raquettes de cactus diminue avec l'âge il semble que les plantes âgés de 1 à 3 années sont appropriés pour l'alimentation animale.

En Amérique latine les raquettes et les fruits sont fréquemment consommés frais et transformés [74]. En revanche, aux marchés nord-américains et en Europe seuls les fruits frais sont plus répandus [75].

Au Maroc seul le fruit du cactus est consommé frais. On le retrouve en vente au niveau des régions de production et dans tous les centres urbains. L'excès de la production est

séché au soleil particulièrement au Sud du pays pour la consommation humaine en période de disette.

I.3.2. L'usage médical

On assiste également à un intérêt croissant pour l'exploitation de l'OFI dans des utilisations non alimentaires, essentiellement pour des applications médicales, pour le traitement de plusieurs maladies. Comme de nombreux fruits et légumes [76,77], les cactus ont été également signalés bénéfiques à la santé [27]. Ces effets sont illustrés dans le traitement de plusieurs maladies.

I.3.2.1. L'effet anti-cancer

La plupart des études suggèrent que l'extrait de fruit de cactus :

- (i) inhibe la prolifération des lignées de cellules de cancer du col de l'utérus, des ovaires et de la vessie [78,79].

- (ii) inhibe la croissance tumorale chez la souris (cancer ovarien in vivo) [78,79].

L'administration intra- péritonéale d'une solution d'extrait de cactus chez des souris n'a pas d'incidence sur le poids corporel de l'animal, ce qui indique que le cactus n'a pas eu d'effet toxique important chez les animaux. Par ailleurs on note une inhibition de la croissance tumorale comparable à la rétinoïde synthétique N-(4 - hydroxyphernyl) rétinamide (4- HPR), qui est actuellement utilisée comme agent chimio-préventif dans la chimio-prévention du cancer de l'ovaire [80,81]. Le(s) composé(s) de l'extrait de cactus qui exerce ces effets ainsi que le mécanisme d'action ne sont pas encore élucidés.

I.3.2.2. Propriétés anti-oxydantes

L'action anti-oxydante est l'un des nombreux mécanismes par lesquels les substances de fruits et légumes pourraient exercer leurs effets bénéfiques sur la santé [3,82,83]. La présence de plusieurs antioxydants (acide ascorbique, caroténoïdes, glutathion réduit, la cystéine, la taurine et flavonoïdes) a été détectée dans les fruits de différentes variétés de cactus (tableau 4) [3,9,59,64]. Les propriétés antioxydantes des bétalaïnes de la figue de barbarie (bétanine et indicaxanthine) ont été révélés [20,59,75,83,84,85]. De nombreuses études in vitro ont démontré l'effet bénéfique des polyphénols et bétalaïnes incolores [59,83,86,87,88]. Ces effets sont généralement attribués à la capacité des antioxydants à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène comme l'oxygène singlet,

le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, ou la suppression du système xanthine/xanthineoxidase, qui peuvent tous induire la peroxydation des lipides.

Les polyphénols sont bien connus comme des antioxydants, cardio-protecteurs, anticancéreux, antiviraux et anti-allergéniques [89,90].

Tableau 4 : Teneur en vitamines et antioxydants d'*Opuntia spp* : Raquettes et pulpe de fruits [3,9,59,64].

Composés	Poids dans le fruit frais (pour 100g)	
	Cladodes	Pulpe de Fruit
Acide ascorbique	7-22 mg	12-81 mg
niacine	0.46 mg	Des traces
riboflavine	0.60 mg	Des traces
caroténoïdes totaux	11.3 -53.5 g	0.29-2.37 g
Beta-carotène	non disponible	1.2 -3.0 µg
Thiamine	0.14 mg	Des traces
Vitamine E totale	non disponible	111-115 µg
Vitamine K1	non disponible	53 µg
Flavonols:		
- Dérivés de kaempférol	non disponible	0.11-0.38 g
- Dérivés de quercétine	non disponible	0.98-9 g
- Dérivés de l'isorhamnétine	non disponible	0.19-2.41 g

I.3.2.3. L'effet anti- viral

Une étude réalisée par [Ahmad et al.\[91\]](#) a démontré que l'administration d'un extrait de tige de cactus (*Opuntia de streptacantha*) à des souris, des chevaux, et des humains inhibe la réplication intracellulaire d'un certain nombre d'ADN et ARN de virus tels que le virus de l'herpès simplex de type 2, le virus herpétique, le virus de la pseudo-grippe, le virus de la grippe, le virus de la maladie respiratoire syncytial et contre le VIH-1. Une inactivation des virus extracellulaires a également été rapportée par les mêmes auteurs.

I.3.2.4. L'effet anti-inflammatoire

Plusieurs études ont évoqué les actions anti-inflammatoires et analgésiques du cactus en utilisant soit l'extrait de fruit [92], soit les raquettes lyophilisées [93], ou les phytostérols des extraits de fruits [9]. Park et al.[94] ont identifié le β -sitostérol comme le principe actif anti- inflammatoire de l'extrait de tige. Des études sur les rats ont montré la réduction des lésions-gastriques par la poudre des fruits [95,96]. Enfin, la bétanine et l'indicaxanthine stimulent un effet inhibiteur sur l'activité de chloration de la myéloperoxydase de pH 5 à pH neutre [97].

I.3.2.5. L'effet anti- diabétique (type II)

Les cladodes ont été traditionnellement utilisées pour traiter le diabète au Mexique [98]. Aujourd'hui, l'*Opuntia ssp* est parmi la majorité des produits recommandés par les herboristes Italiens pour réduire la glycémie [99]. Certaines études ont démontré l'activité hypoglycémiant de l'extrait du fruit de cactus épineux sur des individus diabétiques et non-diabétiques [100,101]. Dans une étude sur les rats, la combinaison de l'insuline et de l'extrait purifié de cactus (*Opuntia fuliginosa Griffiths*) a réduit le glucose sanguin et a réduit les niveaux d'hémoglobine glyquée à la normale [101]. Une étude récente a montré que le supplément alimentaire chez les rats avec de l'huile de graine de cactus (25 mg / kg) réduit la teneur de glucose dans le sérum [102]. Ces observations ont été expliquées par une induction potentielle de la sécrétion d'insuline.

I.3.2.6. Effets antihyperlipidémiques et hypercholestérolémiques

Des résultats des travaux expérimentaux suggèrent que le figue de Barbarie réduit le taux de cholestérol dans le sang humain et modifie la composition des lipoprotéines de basse densité (LDL) [30-70-103-104-105]. Galati et al.[106] ont constaté que les taux plasmatiques de cholestérol , LDL et de triglycérides de rats ont été fortement réduits après 30 jours d' une administration quotidienne (1g/kg) de raquettes lyophilisées d'*Opuntia ficus indica*. Récemment, Ennouri et al. [102] ont observé une diminution de cholestérol total et de LDL dans le plasma sans effet sur les concentrations de cholestérol-HDL après l'addition de l'huile de graines (25 g/kg) pour l'alimentation chez le rat.

Dans l'ensemble, les effets de cactus sont généralement attribués à la haute teneur en fibres des raquettes, bien que d'autres ingrédients actifs (tels que les β -carotènes, vitamine E et le β -sitostérol) peuvent être impliqués.

I.3.2.7. D'autres effets positifs sur la santé

Les produits du cactus, fruits, raquettes ou infusions de fleurs, ont longtemps été utilisés pour traiter les ulcères [93,96,106], les allergies [107], la fatigue et les rhumatismes. Ils ont été utilisés pour leurs propriétés anti-uriques et diurétiques [108]. La quercétine 3-méthyl est un flavonoïde, extrait de cactus ou de fruits, semble être un puissant neuroprotecteur [88] (HBP) par l'inhibition de l'activité de l'aromatase et la 5 α -réductase, qui sont impliquées dans l'aromatation androgène et la réduction de la testostérone [109]. Dans un essai d'alimentation de rat, des effets diurétiques ont été révélés par l'ingestion des fleurs, cladode et surtout les infusions de fruits [108]. Plus récemment, Galati et al [110] ont rapporté un effet protecteur de jus de cactus contre la toxicité hépatique induite par le tétrachlorure de carbone (CCl₄) chez les rats.

I.3.3. D'autres utilisations

I.3.3.1. Raquettes

La plante de cactus a trouvé d'autres utilisations, telles que dans la cosmétique : shampoings, revitalisants, lotions pour le visage et pour le corps, savons, gels capillaires et crèmes de protection solaire. La raquette est utilisée dans la production de bioéthanol [70,111,112,113].

I.3.3.2. Fruits

Les colorants naturels d'origine végétale suscitent un intérêt croissant des fabricants d'aliments et des consommateurs et tendent à remplacer les colorants synthétiques.

Les bétalaines présentes dans les fruits, mais aussi dans les fleurs représentent une alternative sûre. Les fruits présentent une large gamme de couleurs, ce qui les rend très appréciés pour des fins différentes [114,115]. Malheureusement, les produits transformés à base de cactus sont extrêmement rares. Par conséquent, un certain nombre d'études ont récemment traité de la pertinence de la transformation des fruits de cactus et le développement des moyens de commercialisation de leurs produits, comme le concentré du jus pour des fins de production de colorants alimentaires [57].

Le jus obtenu à partir de la pulpe est une bonne source d'édulcorants et de colorants naturels [30,58,116,117].

La totalité du fruit peut être exploitée, même les déchets qui en résultent, les graines résiduelles peuvent être utilisées pour l'extraction d'huile [42,61], tandis que les pelures sont une source riche en pectine, en acides gras polyinsaturés, en vitamines anti-oxydantes naturelles et en stérols [42].

I.3.3.3.Graines

Les graines du fruit donnent une huile comestible qui présente un haut degré d'insaturation, avec un taux important d'acide linoléique et un faible taux d'acide linoléique [118,119]. L'acide linoléique est idéal pour les peaux desséchées car il favorise la reconstitution des lipides de la peau, limite les pertes hydriques tout en favorisant la fluidité membranaire [42].



Figure 5 : Huile des graines de la figue de barbarie

Grâce à ces caractéristiques et à d'autres caractéristiques chimiques et physiques (Tableau 5), l'huile appartient à la même catégorie que les huiles de graines de soja, de maïs et de tournesol [29,31,42,43,44,70,120,121,122]. Cette huile est riche en vitamines et minéraux, ainsi qu'en actifs réputés pour leurs propriétés anti-oxydantes, agissant contre le vieillissement des peaux. Elle est utilisée pour la synthèse des crèmes, dans les soins anti-rides et anti-vergetures. Hydratante, nourrissante et adoucissante, les pouvoirs

de cette huile dépasseraient même ceux de l'huile d'argan. Par conséquent il présente une valeur commerciale très élevée (un litre coûte environ 10.000 DH), mais ayant une grande utilité en industrie cosmétique.

Tableau 5 : Composition chimique des grains de figuier de barbarie [26-29-32-42- 43-44-71-122]

Constituant	g/100g
Protéines	11-12 % en matière sèche
Lipides	6.77 % en matière sèche
Lipides principaux	acides linoléiques, oléiques, palmitiques
Stérols principaux	β -sitostérol, campesterol
Fibres	54.2 % en matière sèche
Cellulose	30%
Cendre	1,30%

I.4. Les bétalaines: propriétés, sources, applications et stabilité

La couleur des aliments est un qualificatif très important, elle est considérée comme un indicateur de la qualité du produit. Beaucoup d'aliments perdent leurs couleurs en cours de traitement, c'est le cas des produits de fruits, et souvent on recourt à l'utilisation de colorants afin de restaurer leur couleur. Les colorants naturels ont des inconvénients par rapport aux colorants synthétiques, tels que leur coût élevé et leur faible stabilité. Mais les consommateurs évitent de plus en plus les colorants synthétiques, et leur préfèrent des pigments naturels, qui sont considérés comme inoffensifs et même bénéfiques pour la santé. Ces exigences ont poussé à imposer des réglementations dans le monde entier [123]. Le marché actuel de tous les colorants alimentaires est estimé à 1 milliard de dollars, dont le quart est occupé par les pigments naturels. Mais, les marchés des colorants synthétiques à tendance à diminuer en faveur des colorants naturels [124]. Ces pigments naturels sont des composés conformes à l'usage alimentaire, tels que les anthocyanines, les bétalaines et l'acide caraminique, les caroténoïdes et la chlorophylle solubles aussi bien dans l'eau que dans l'huile. Les propriétés des pigments naturels et leurs avantages sur la santé ont été rapportés par de nombreux travaux, en particulier ceux des caroténoïdes et des anthocyanes, dont les

propriétés antioxydantes ont fait l'objet des études approfondies. Les bétalaines, en raison de leur rareté dans la nature, n'ont pas été beaucoup étudiées comme composés bioactifs, mais certaines études ont indiqué que leur potentiel en tant que pigments antioxydants a motivé leur utilisation comme colorants alimentaires [125].

I.4.1. Structure des bétalaines

Tous les bétalaines présentent dans leur structure le même radical : l'acide bétalamique. On compte deux principales familles de bétalaines : les bétaxanthines et les bétacyanines.

Les bétaxanthines sont formées par la condensation d'un acide aminé ou une amine avec un groupe aldéhyde de l'acide bétalamique (Figures 6-7). Cette structure de base donne la couleur jaune foncée au jaune orange avec un maximum d'absorption situé entre 470 et 486 nm.

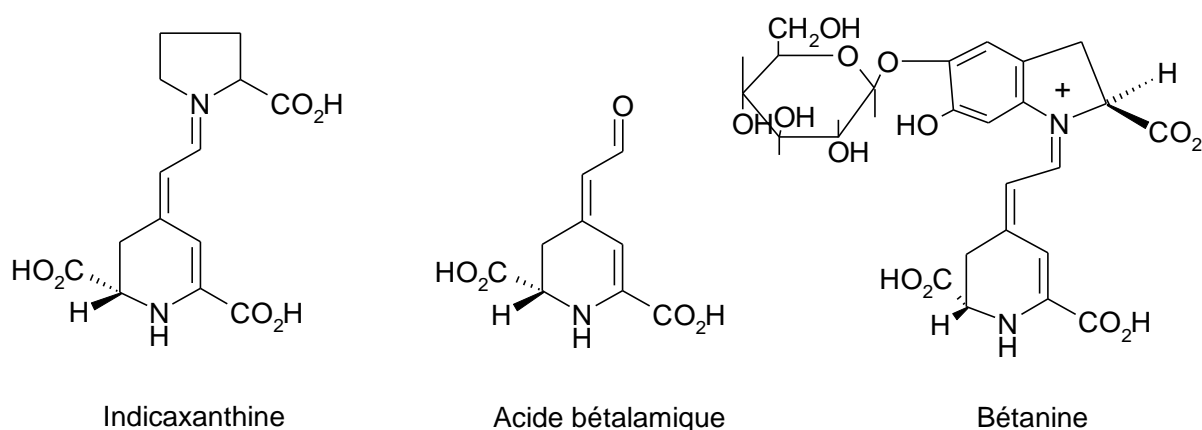


Figure 6. Structure chimique de l'acide bétalamique, Indicaxanthine et Bétanine [126].

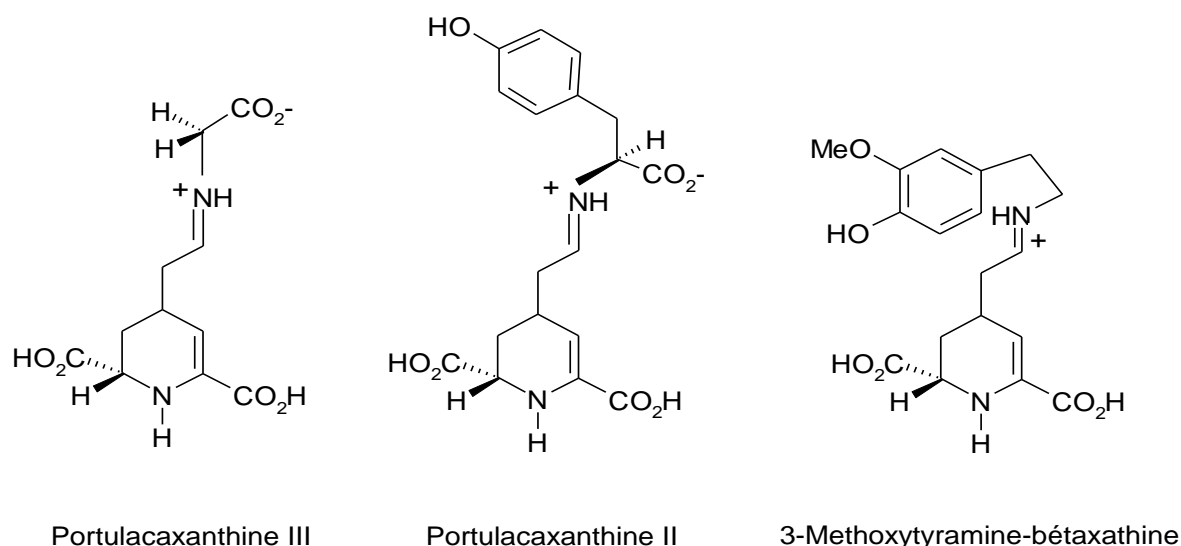


Figure 7. Structure chimique de quelques bétaxanthines: Portulacaxanthine III, Portulacaxanthine II et labétaxanthine 3-methoxytyramine [126].

Les bétacyanines sont également constituées d'une unité d'acide bétalamique liée à une molécule de cyclo-DOPA [127] (Figure 6). Elles sont de couleur violette due à une structure aromatique qui induit un fort changement de 60 nm de l'absorbance maximale qui sera situé entre 534 et 554 nm.

Les bétacyanines naturelles sont composées principalement des chromophores non-glycosylés de la bétanidine ou de l'isobétanidine obtenus par la condensation du cyclo-DOPA avec l'acide bétalamique [128]. Les deux molécules diffèrent seulement par la configuration absolue de leur centre chiral C15 (Figure 8) [129].

La plupart des bétacyanines sont dérivées de ces deux composés par O-glucosylation sur un des deux groupes hydroxyles libres du cyclo-DOPA. La glucosylation en position 5 est la plus fréquente, comme il a été observé dans la bétanine de la betterave rouge (Figure 9).

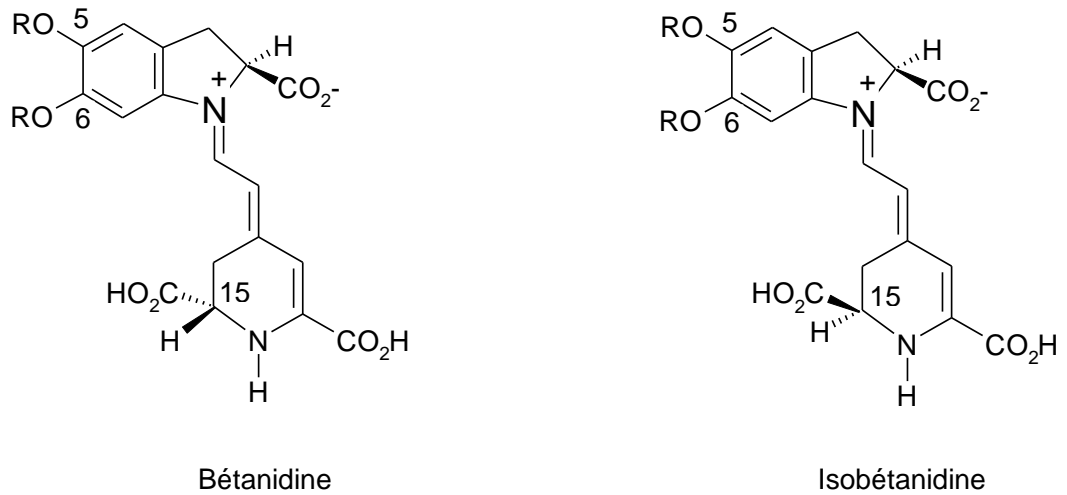


Figure 8. Les chromophores non glycosylés des bétacyanines diffèrent seulement par le centre chiral C₁₅ (R=H) [126].

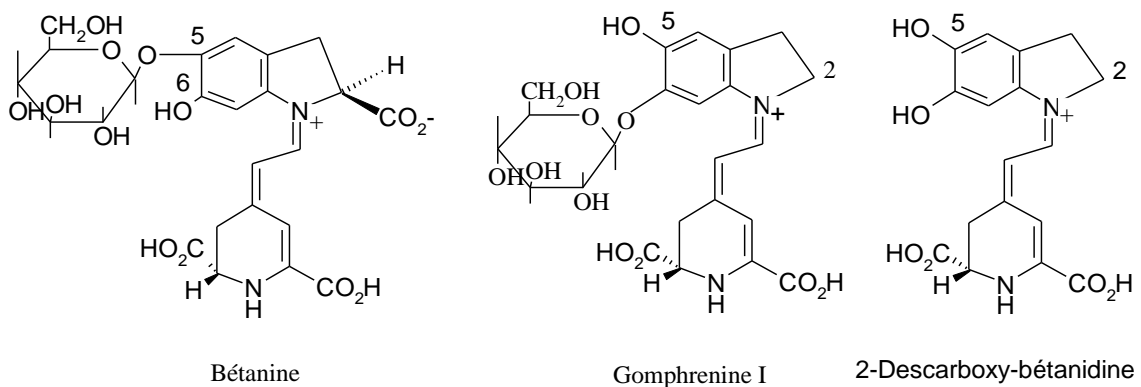


Figure 9. Comparaison des différents types de glycosylation. Bétanidine-5-*O*-glucoside (bétanine), bétanidine 6-*O*-glucoside (gomphrénine I) et la bétanine non glycosylée 2-descarboxy [126].

I.4.2. Bétalaines en tant que colorants

Les bétalaines sont des pigments contenant de l'azote solubles dans l'eau, qui sont synthétisés à partir de l'acide aminé, la tyrosine en deux groupes structuraux : les bétacyanines rouge-violet et les bétaxanthines jaune-orange.

L'acide bétalamique est le chromophore commun à tous les pigments de bétalaïne [130]. La nature du groupe d'addition à l'acide bétalamique détermine la classification de pigment en bétacyanine ou bétaxanthine.

La bétacyanine la plus commune est la betanidine 5-O- β -glucoside (bétanine), le principal pigment dans les betteraves rouges [131]. Les bétacyanines présentent deux maximas d'absorption : un dans l'UV (270 - 280 nm) en raison de la cyclo-Dopa et un second dans le domaine de visible (535-540 nm) en fonction du solvant.

Les couleurs rouges et violette résultent de différents groupes de substitution de bétacyanines. La glycosylation de la betanidine vient généralement avec un hypsochrome décalé d'environ de 6 nm, tandis qu'une seconde fraction de sucre attachée à la première n'affecte pas apparemment la couleur [131,132].

L'acylation avec des acides hydroxycinnamiques se manifeste par l'apparition d'un troisième maxima (300-330 nm), tandis que des groupements acyle aliphatiques ne modifient pas le spectre [131].

Les modifications structurelles dans les bétaxanthines produisent des changements bathochromes.

Les bétalaines ont trouvé des applications dans la coloration des aliments, tels que les desserts, les confiseries, les fruits secs, les produits laitiers et les produits de la viande. La concentration de pigment pur nécessaire pour obtenir la teinte désirée est relativement faible, elle dépasse rarement 50 mg/kg [133]. Selon le Codex Alimentarius Commission (2004), l'utilisation des bétalaines est limitée seulement par les procédés de fabrication. Le colorant alimentaire E162, connu sous le nom « betteraves rouges », extrait de betteraves, est commercialisé dans l'Union européenne et aux Etats-Unis en tant que colorant alimentaire [134]. Ce colorant est disponible sous forme de concentrés de jus (concentration de jus de betterave à 60-65 % du total solides) ou des poudres, contenant de 0,3% à 1% de pigment [135].

Cai et Corke [136] ont comparé la stabilité des bétacyanines des amarantes par rapport à des produits commerciaux en fonction de leur couleur caractéristiques et de leur stabilité à des températures différentes. Ils ont montré que la stabilité des bétacyanines dépend de la température et des conditions de stockage.

I.4.3. Sources des bétalaines végétales

Les anthocyanes et les bétalaines n'ont jamais été signalés dans la même plante, ils semblent être usuellement exclusifs dans le règne végétal [137]. Les bétalaines se

trouvent dans les racines, les fruits et les fleurs [130]. Ils absorbent le rayonnement visible dans la gamme de 476 à 600 nm avec un maximum à 537 nm à pH 5,0. Les sources connues des bétalaines sont la betterave rouge (*Beta vulgaris* L. ssp. *Vulgaris*), les graines ou les feuilles d'amarante (*Amaranthus* sp.) et les fruits de cactus, tels que ceux de genre *Opuntia* et *Hylocereus* [132,138,139,140].

La principale source de la bétalaine exploitée commercialement est la betterave rouge (*Beta vulgaris*), qui contient deux pigments solubles, la bétanine (rouge) et vulgaxanthine I (jaune). Selon Nilsson et al. [141], les teneurs en bétacyanine et en bétaxanthine contenus dans les betteraves rouges varient respectivement de 0,04 à 0,21 % et de 0,02 à 0,14 %. Selon Von Elbe [142], les principaux pigments rouges-violet ont été : la Bétanine, l'isobétanine, la bétanidine et l'isobétanidine et les principaux éléments jaunes ont été vulgaxanthin I et vulgaxanthin II.

La bétalaine extraite de la betterave rouge présente une saveur terreuse ce qui limite son usage comme colorant alimentaire notamment dans les produits laitiers [131,143]. Ainsi, des tentatives ont été entreprises pour explorer d'autres sources de bétalaines. Les cactus, notamment les fruits semblent être une meilleure source de colorants naturels alimentaires [24,144,145].

En effet les extraits des fruits de Cactus, à la différence de ceux de la betterave rouge, peuvent être utilisés dans les aliments sans les effets négatifs de saveur. Les bétalaines des fruits de cactus couvrent également un spectre de couleurs plus large du jaune - orange (*Opuntia* sp.) au rouge -violet (*Hylocereus* sp.) par rapport à la betterave rouge et peut donc ouvrir de nouvelles fenêtres de diversification de couleur. Le Jaune Orange de fruits de cactus est d'un intérêt particulier, vu la rareté des pigments jaunes solubles dans l'eau [57].

En outre, les faibles teneurs des composés phénoliques incolores dans les fruits de cactus et qui peuvent interagir avec les bétalaines, font de ces produits un intérêt particulier [30].

I.4.4. Production biotechnologique de bétalaines

Dans certains études, des chercheurs ont tenté de réaliser la culture de cellules de betteraves pour production bétalaines en bioréacteurs [146,147], mais vu le coût il s'est

avéré que la biotechnologie de la production de la bétalaine reste incapable de concurrencer la production à partir de la betterave [148].

I.4.5. Extraction des bétalaines

Les produits contenant de la bétalaine sont généralement macérés et les pigments sont extraits à l'eau, et dans la plupart des cas ; on utilise également des solutions d'éthanol (20-50 %) pour compléter l'extraction [133]. Néanmoins, **Castellar et al. [134]** ont indiqué que l'eau extrait des niveaux plus élevés de pigments de fruits d'*Opuntia* que l'éthanol-eau.

García Barrera et al. [149] ont rapporté que l'extraction de la bétalaine est plus meilleure avec un mélange éthanol-HCl (rapport v/v, 99:1) qu'avec de l'eau. Toutefois, l'extraction à l'eau permet une meilleure stabilité des pigments, une légère acidification augmente la stabilité de la bétacyanine et évite l'oxydation par les polyphénoloxydases [130,150]. Ces enzymes peuvent être inactivées par un court traitement thermique de l'extrait, pour éviter la dégradation enzymatique des bétalaines [133].

A l'échelle du laboratoire, plusieurs méthodes d'extraction des bétalaines ont été énumérées, telles que l'extraction par diffusion [151], l'extraction solide-liquide [152], l'osmose inverse [153] et l'ultrafiltration [154,155]. Ces procédés sont plus efficaces pour la récupération des bétalaines des betteraves par rapport aux techniques hydrauliques conventionnelles.

I.4.6. Analyse des bétalaines

Les premières études d'identification des bétalaines étaient fondées sur des analyses par spectroscopie UV-visible. Les bétacyanines absorbent autour de λ_{max} = 540 nm, et les bétaxanthines, à λ_{max} = 480 nm.

La caractérisation chimique des bétalaines et l'identification individuelle des composés sont réalisées par la CLHP et UV - visible, la spectrométrie de masse et la spectroscopie RMN [131,156]. Ces derniers auteurs ont réussi à identifier quatre bétacyanines non-carboxylés (bétanine, isobétanine, phyllocactin et hydrocérine). Plus tard, **Wybraniec et al. [157]** ont élucidé les structures de mono- et di- bétacyanines décarboxylés

I.4.7. Facteurs influant sur la stabilité chimique de bétalaines

La dégradation des bétalaines peut se produire par différents mécanismes, qui ont été détaillées par [Herbach et al. \[6\]](#).

Plusieurs facteurs, intrinsèques et extrinsèques, affectent la stabilité des bétalaines, et doivent être pris en considération pour assurer la rétention optimale du pigment dans les aliments contenant des bétalaines.

I.4.7.1 Effet de la structure et la composition

Au point de vue structurale, les bétacyanines ont été signalées comme étant plus stables que les bétaxanthines, à la fois à température ambiante [\[158\]](#) et à température élevée [\[159-161\]](#). La comparaison de la stabilité des différentes bétacyanines révèle que les structures glycosylées sont plus stables que les aglycones [\[161\]](#).

Cependant, la stabilité ne semble pas être améliorée par glycosylation [\[162\]](#). Certaines études ont montré une stabilité croissante des bétacyanines résultant de l'estérification par des acides aliphatiques [\[149,163\]](#), aussi bien avec les acides aromatiques, en particulier à la position 6-O [\[164,165\]](#). La transformation des glycosides des bétanines en leurs aglycones respectifs produit un décalage bathochromique de 4 à 6 nm. Cependant, ces aglycones sont plus labiles et susceptibles de s'oxyder ce qui entraîne des pertes de couleurs et un brunissement ultérieur [\[131\]](#).

I.4.7.2. Effet du pH

Dans les fruits des variétés *d'Opuntia undulata* et *d'Opuntia ficus-indica*, les bétacyanines et bétaxanthines ont été identifiées, alors que dans les fruits de l'*Opuntia stricta* seulement les bétacyanines (bétanine et isobétanine) ont été détectés [\[58\]](#). [Castellar et al. \[58\]](#) ont rapporté que les fruits de la variété *d'Opuntia stricta* présentent des taux importants en bétacyanines (80 mg/100 de fruit frais). La stabilité thermique des extraits de pigments était dépendante du pH, avec une stabilité maximale à pH 5 pour les bétacyanines [\[58- 165\]](#).

La variation des propriétés colorantes des jus de fruit des genres : *Opuntia* et *Hylocereus* en fonction du pH (1 à 8) a été évalué par [Stintzing et al. \[24\]](#) (Tableau 6, page 35). En effet, les échantillons étaient stables aux pH compris entre 3 et 7. Aussi, les propriétés des pigments rouges du jus de l'*Opuntia ficus-indica* cv. Rossa sont similaires à celles

des pigments issus de la betterave rouge et sont plus convenables aux colorations des aliments à faible acidité. Ces auteurs ont rapporté également que les jus de fruits d'*Hylocereus* sont caractérisés par une coloration pourpre, alors que ceux issus des fruits de *Opuntia ficus-indica* cv. Gialla ont une coloration jaune.

Par conséquent, les bétalaines sont relativement stables dans un large domaine, de pH de 3 à 7 [4,24,166], ce qui permet leur application aux aliments à faible acidité. Des études ont montré que la stabilité de la bétanine est maximale à des pH 5-6 [4,58,140,161,166]. Cette valeur optimale de stabilité peut être déplacée par la température [167].

I.4.7.3. Influence de l'oxygène

Les bétalaines réagissent avec l'oxygène moléculaire ce qui entraîne une dégradation de pigment [161]. La stabilité de la bétalaine a été améliorée par des antioxydants [161,168,169] ou par une atmosphère d'azote [161,170,171].

I.4.7.4. Effet de la lumière

L'exposition à la lumière de la bétalaine altère sa stabilité [132,172,173]. Attoe&Von Elbe [173] ont montré que la stabilité de la bétalaine est inversement proportionnelle à l'intensité de la lumière (de 2200 à 4400 lux). L'absorption de la lumière (UV ou visible) excite les électrons π du pigment chromophore à un état plus énergétique (π^*), de plus en plus réactif ou abaisse l'énergie d'activation de la molécule [4]. La dégradation des bétalaines par la lumière est accentuée par la présence d'oxygène, car on a remarqué que les effets de l'exposition à la lumière sont négligeables dans des conditions anaérobies [162,173].

Dans une étude, réalisée par Cai et al. [132], les auteurs ont évalué les caractéristiques colorantes et spectrales de 21 génotypes de 7 espèces d'*Amaranthus* et ont étudié la stabilité de leurs bétacyanines [132]. Des variations dans les caractéristiques colorantes et dans la stabilité des pigments ont été notées. La stabilité optimale de ces pigments a été obtenue aux faibles températures ($\leq 14^\circ\text{C}$) à l'obscurité et en absence de l'air.

L'effet de la lumière a été étudié combiné à celui de stockage (6 mois) sur la stabilité des bétalaines dans le jus de fruits jaunes de *Opuntia ficus-indica* par Mofhammer et al. [176]. Ces auteurs ont remarqué que les échantillons, conservés à l'abri de la lumière,

maintiennent notablement la couleur et leurs taux de rétention sont importants que ceux gardés à la lumière [176] (Tableau 6, page 35).

I.4.7.5. Métaux

Des cations métalliques tels que le fer, le cuivre, l'étain et aluminium peuvent accélérer la dégradation de la bétanine [174,175,177,178]. Il se produit la complexation métal-pigment suivie d'un effet bathochrome conduisant à des changements hypochromiques. Certains agents chélatants, tels que l'acide citrique et de l'EDTA ont été rajoutés pour stabiliser la bétanine contre la dégradation catalysée par un métal [169,174,175,179,180].

I.4.7.6. Les antioxydants

Certains antioxydants alimentaires, en particulier les acides ascorbiques et isoascorbique, ont été indiqués pour améliorer la stabilité des bétalaines [136,170,180,181].

Un effet stabilisant significatif a été observé dans les bétalaines du jus de fruits jaunes de l'*Opuntia ficus-indica* fortifié avec l'acide iso-ascorbique (0,1%) (Tableau 6) [176]. Selon une autre étude, Daeseok et al. [183] ont rapporté que l'addition des acides ascorbique, iso-ascorbique, métaphosphorique et gluconique améliorent la régénération des pigments de jus de la betterave rouge après chauffage et provoquent des rétentions importantes en pigments durant le traitement et le stockage [183].

Cependant, Pasch et Von Elbe [174] ont observé un effet pro-oxydant de l'acide ascorbique à une concentration de 1000 mg / kg. Une explication possible, proposée par Savolainen & Kuusi [179], fait référence aux effets la dégradation de l'acide ascorbique lors de blanchiment par du peroxyde d'hydrogène. Les études sont controversées sur le meilleur stabilisant. Certaines études ont rapporté que l'acide iso-ascorbique a un meilleur effet sur la stabilité de la bétanine que l'acide ascorbique [149,161,182]. D'autres les résultats de Herbach et al.[180] indiquent une meilleure rétention de pigment avec l'acide ascorbique qu'avec l'acide iso-ascorbique (Tableau 6) [180].

I.4.7.7. La température et la durée de traitement

La température est le facteur le plus important sur la stabilité des bétalaines au cours du traitement et de stockage des aliments. Certaines études ont rapporté que le taux de dégradation des bétalaines augmente avec la température [149,167,184]. L'étude de la dégradation thermique de la bétacyanine en bétanine révèle que la transformation suit la cinétique de réaction de premier ordre [172,184,185].

En 2006, **Moßhammer et al. [176]** ont étudié l'impact du traitement thermique (75, 85 et 95°C) durant 60 min sur la rétention des bétalaines dans le jus de fruits jaunes de l'*Opuntia ficus-indica* (Tableau 6). Ces auteurs ont remarqué que la rétention des bétalaines diminue avec l'augmentation de la température de traitement [176]. Une corrélation entre la rétention totale en bétaxanthines et le rapport indicaxanthine/isoindicaxanthine a été détectée dans les échantillons de jus traités [176].

Après avoir identifié les pigments bétalaines contenues dans des figues de barbarie cultivées en Sicile, **Fernandez-Lopez & Almela [79]** ont étudié la stabilité des bétacyanines. Les résultats obtenus, suite à l'évaluation de l'effet de la température entre 25 et 90°C, ont révélé des dégradations importantes de bétacyanines aux températures supérieures à 70°C. En effet, le traitement à 70°C pendant 30 minutes provoque une dégradation de l'ordre de 75% et augmente à 90% quand la température atteint 90°C [79]. Ces auteurs ont conclu que les bétacyanines sont très sensibles aux traitements thermiques en relation avec la durée de traitement.

Au cours du traitement thermique, la bétanine peut être dégradée par isomérisation, décarboxylation ou clivage ce qui entraîne une réduction progressive de la couleur rouge, et éventuellement l'apparition d'une couleur brune claire [161,186].

Tableau 6 : Facteurs étudiés par différents auteurs pour évaluer la stabilité chimique des pigments bétalaines.

Facteurs influençant la stabilité chimique de bétalaines					
Température T (°C)	pH	Durée de traitement (min)	Antioxydant	Présence de la lumière	Références
85	4	60	(0,1% -1%) acasc ou accitr ou acisoasc		[176]
50	5	30			[117]
25, 80, 85, 90, 95 et 100		5 à 30		Obscurité	[13]
50, 70 et 90	2-7				[189]
	1- 8				[24]
75, 85 et 95		60	0.1% acisoasc	Obscurité	[176]
85	3,2	15			[107]
100	5			Exposition à la lumière 16h chaque jour pendant 14 jours	[187]
85	4 et 6	60	(0,1%-1%) acasc, accitr ou acisoasc		[180]

acasc : acide ascorbique ; accitr : acide citrique, acisoasc : acide iso-ascorbique

I.4.8. Les propriétés antioxydantes des bétalaines

Il y'a des preuves croissantes que le stress oxydatif conduit à des changements biochimiques, qui contribuent à l'élaboration de plusieurs maladies dégénératives telles que le cancer, et les cardiopathies. Les molécules antioxydantes, dont certaines sont des dérivés de l'alimentation, assurent la protection contre les effets potentiellement néfastes de stress oxydatif [190]. Plusieurs travaux ont démontré l'activité antiradicalaire puissante de la bétalaine [75,190,191,192,193,194,195]. Certains rapports basés sur des tests in vitro classent la betterave parmi les dix premiers légumes par rapport à leur activité anti-oxydante. Zou et al. [78] ont rapporté l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses de l'utérus, des ovaires et de la vessie in vitro des souris par l'extrait de fruit de cactus, dont l'activité antioxydante est due en partie aux bétalaines. Des tests in vitro effectués par Tesoriere et al.[196] ont suggéré que la poire de cactus diminue l'oxydation des lipides. Des essais comparatifs suggèrent qu'un supplément en vitamine C contribue à diminuer l'oxydation des lipides.

[Stintzing et al. \[20\]](#) ont conclu que la contribution des bétalaines de la figue de barbarie sur l'activité antioxydante in vitro est supérieure à celle prévue par l'acide ascorbique.

I.5. Généralité sur les plans d'expériences

Les plans d'expériences constituent essentiellement une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manière efficace et économique. La méthodologie des plans d'expériences se base sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats (Norme ISO 3534-3).

I.5.1. Bref aperçu historique

L'origine des plans d'expériences remonte au début du siècle dernier par des recherches agronomiques. Ils reposent essentiellement sur des expérimentations multi facteurs et sur un traitement des résultats à l'aide de régressions multiples et d'analyse de la variance. Ils sont restés du domaine de quelques spécialistes et leurs applications industrielles ont été réduites du fait de la complexité des calculs qu'ils nécessitent, jusqu'à l'arrivée des moyens informatiques puissants (Figure. 10) [\[197\]](#).

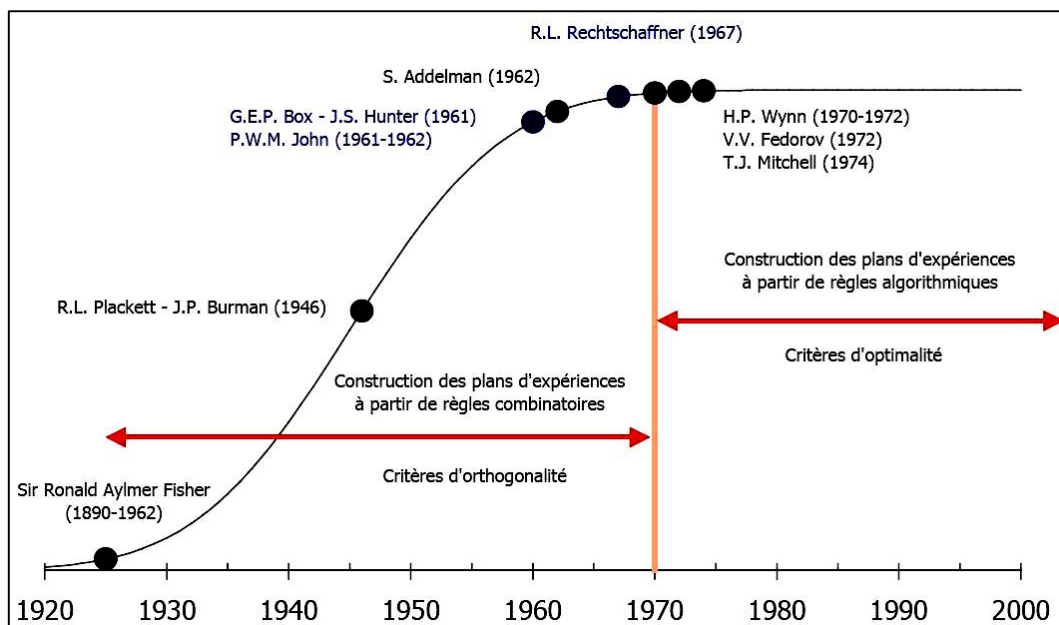


Figure 10. Evolution de la méthode des plans d'expériences

I.5.2. Contexte d'utilisation



Figure 11.: Description du phénomène de type boîte noire

Le contexte d'utilisation des plans d'expérience recouvre les phénomènes de type « boîte noire » que l'on cherche à « éclaircir » pour mieux en comprendre le fonctionnement et en optimiser les performances. Cela impose une connaissance minimale sur le phénomène étudié avant d'entreprendre les essais. On doit être en mesure de lister les paramètres susceptibles d'agir sur le fonctionnement de la boîte noire. Ces paramètres sont les « entrées » appelées par la suite facteurs ou variables. Les performances obtenues sont les « sorties » appelées par la suite réponses [198] (Fig. 11).

I.5.3. Objectif

A partir des résultats d'essais et/ ou de simulations réalisés, on cherche à expliquer le fonctionnement de la boîte noire en estimant les réponses pour des combinaisons non réalisées des paramètres d'entrées. Le but est de trouver une configuration des paramètres d'entrée qui résolve le problème.

I.5.4. Définitions

Un plan d'expériences correspond à une matrice d'essais-liste des combinaisons des niveaux des facteurs définis à l'avance- qu' il faudra réaliser pour obtenir les résultats.

Facteurs (ou variables) : Les facteurs sont les causes possibles, élémentaires, des variations observées sur la réponse [198]. Ils peuvent être de deux natures différentes : qualitative comme l'efficacité de ce système. En générale un facteur varie entre deux bornes inférieures (niveau bas que l'on note par -1) et la borne supérieure (niveau haut que l'on note par +1). L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur. Un facteur peut prendre plusieurs niveaux à l'intérieur de son domaine de variation (Fig. 12)

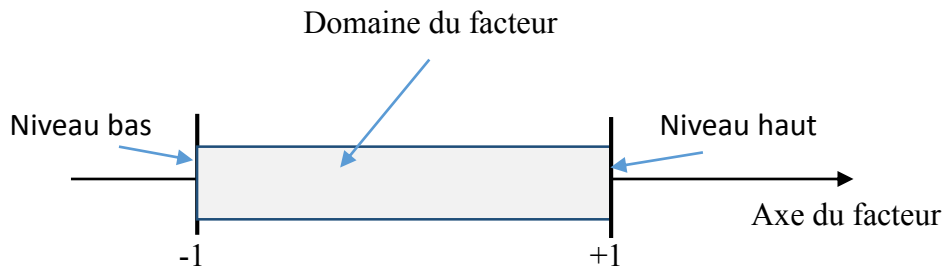


Figure 12 : Domaine de variation d'un facteur défini par ses niveaux

Domaine d'étude : Les niveaux des facteurs peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental. Une expérience donnée est représentée par un point dans ce système. L'ensemble des points expérimentaux constitue le domaine de l'étude (Fig. 13).

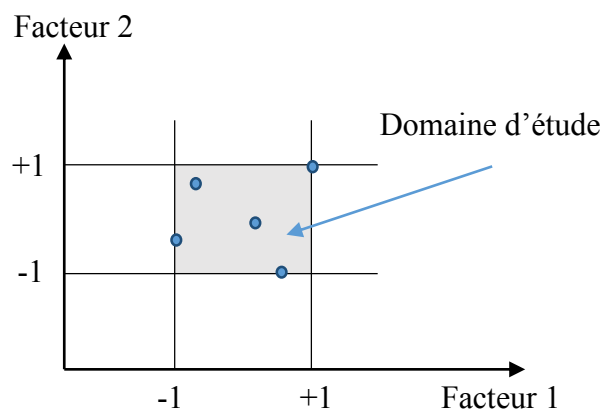


Figure 13 : Domaine d'étude pour un plan de deux facteurs à deux niveaux

La réunion des domaines de variation de chaque facteur définit le domaine d'étude. Autrement dit c'est la partie retenue par l'expérimentateur pour faire ses essais.

La réponse Y : (variable de sortie) correspond à un paramètre de sortie du système étudié ; Une réponse doit être représentative, quantifiable et la moins dispersée possible pour des variables d'entrées maîtrisées et constantes. Pour appliquer la méthodologie des plans d'expériences, il est conseillé d'avoir une réponse sous forme quantitative. En effet, les méthodes d'analyses des résultats d'essais telles que l'analyse de variance ou l'analyse de régression au sens des moindres carrés, s'appuient sur des données exclusivement quantitatives. Par ailleurs, les réponses qualitatives comme, par exemple, la morphologie d'un dépôt (lisse, poreux.....etc.) qui n'est pas un critère quantitatif, pourront s'interpréter à partir d'un codage spécifique des modalités des réponses.

Interaction : effet pour lequel l'influence apparente d'un facteur sur une variable de réponse dépend d'un ou de plusieurs facteurs. L'interaction indique une incohérence de l'effet principal d'un facteur sur la réponse selon le niveau d'un autre (ISO 3534-3).

I.5.5. Types de plans d'expériences

La différenciation entre les différents types de plans d'expériences se fait souvent selon que les facteurs sont indépendants ou pas. Trois catégories principales sont différenciées [199].

Plans de criblage

Ces plans permettent de découvrir les facteurs les plus influents sur une réponse. On ne cherche pas à obtenir une relation précise entre les variations des facteurs et celles des réponses. On distingue :

- ✓ Plans « un facteur à la fois » : Seuls les effets principaux sont connus. On n'obtient aucune interaction.
- ✓ Plans factoriels fractionnaire : Ou plans de Plackett et Burman ou tables de Taguchi. On peut détecter les interactions mais elles sont difficiles à interpréter. Ces plans sont basés sur des matrices d'Hadamard.
- ✓ Plans sursaturés : ces sont des plans qui prennent en compte un grand nombre de facteurs et qui ne demandent que quelques essais.
- ✓ Plans factoriels complets : ils servent à faire du criblage et peuvent servir en modélisation.

Plans de modélisation

- ✓ Plans factoriels complets : ces plans peuvent être utilisés pour la modélisation mais comme, il n'y a que deux niveaux par facteur, on ne peut qu'employer des modèles du premier degré avec interactions.
- ✓ Plans non conventionnels : tout plan qui s'écarte des plans classiques (niveaux ou emplacement décalés, manque de nombre d'expériences...).
- ✓ Plans composites : Les plans composites centrés [200,201] prennent facilement la suite d'un premier plan factoriel dont les résultats sont insuffisamment expliqués par un

modèle du premier degré. Il suffit d'effectuer les expériences correspondant aux points en étoile et de faire les calculs sur l'ensemble de toutes les expériences. Les plans composites sont parfaitement adaptés à une acquisition progressive des résultats.

- ✓ Les plans de Box-Behnken : Les plans de Box-Behnken [202] sont une alternative aux plans composites. Avec ces plans les points expérimentaux sont au centre des arêtes. Ils permettent de traiter un plan avec au moins trois facteurs.

Plans de mélange

Ce sont des plans d'expériences que l'on utilise lorsque l'on étudie des produits composés de plusieurs constituants, dont la somme ne peut dépasser la proportion de 1 ou la valeur de 100%, donc la somme est considérée comme une constante [203,204].

I.5.6. Construction du plan d'expérimentation

I.5.6.1. Choix de la stratégie expérimentale

Les plans d'expériences ont pour but d'apporter le maximum d'informations avec un minimum d'expériences. La méthodologie des plans d'expériences consiste à fabriquer un modèle approximatif qui apportera des éléments d'informations à l'expérimentateur encore appelé « modèle empirique ». Pour cela, le choix du plan d'expériences à mettre en œuvre dépend du problème posé. Dans cette thèse, seuls deux types des plans seront abordés : les plans de criblage et les plans d'optimisation.

- Les plans de criblage permettent de déterminer le poids des facteurs sur les réponses d'un système à partir d'un modèle.
- Les plans d'optimisation ou plans à surface de réponse permettent à partir d'un modèle mathématique polynomial, de déterminer les valeurs des facteurs influents correspondant à une réponse particulière du système.

I.5.6.2. Choix du modèle

Pour l'ensemble des points constituant le domaine expérimental, nous voulons connaître la valeur de la réponse étudiée. Mais, pour des contraintes de coût, de temps, nous ne pouvons pas réaliser des expériences en tout point du domaine expérimental. C'est pourquoi, nous allons utiliser un modèle empirique, qui nous permettra d'avoir cette

information en réalisant un minimum d'expériences [205]. Ce modèle est de la forme générale : $f(\text{facteurs}) = \text{Réponses}$.

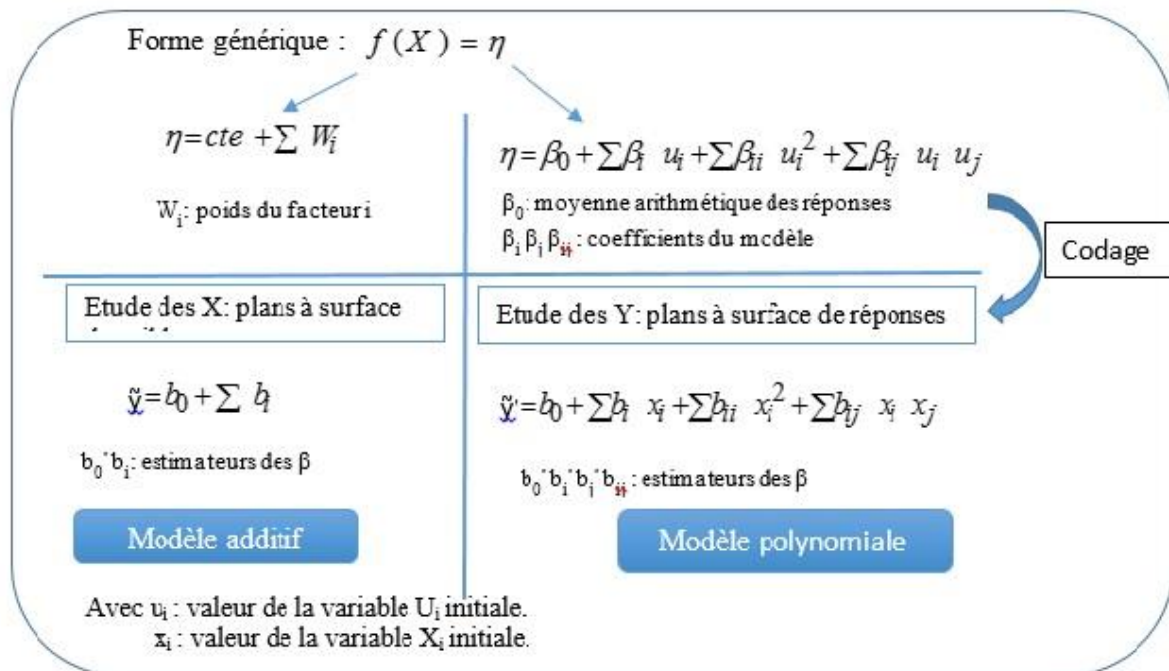


Figure 14 : Modèle mathématique des plans d'expériences

Ces fonctions polynomiales contiennent p coefficients ($b_0, b_1, b_2 \dots$ etc) qu'il faudra estimer grâce à l'analyse des résultats d'essais. La nature et la qualité du modèle dépendent donc de ce que l'on souhaite établir comme relation entre les réponses et les facteurs.

1.5.6.3. Choix de la matrice d'expériences

« Le choix du plan d'expériences dépend de la nature des questions à traiter, du degré de généralité recherché pour les conclusions et des ressources disponibles » (Norme ISO 3534-3).

1.5.6.4. Définir le domaine expérimental

Le domaine expérimental délimite la zone d'étude des facteurs. Il est différent selon le problème de l'expérimentateur (plan criblage ou plan d'optimisation). Dans les deux cas, il représente les combinaisons d'expériences choisies parmi l'ensemble des combinaisons possibles des facteurs principaux.

1.5.6.5. Conduite des essais

Au cours des différentes expériences, il est important de conserver l'environnement et le maximum de conditions opératoires "invariantes"

1.5.6.6. Interprétations des résultats

A ce stade, les facteurs de l'étude et les réponses sont définis, le plan d'expériences a été réalisé et le modèle selon lequel les réponses expérimentales seront exploitées a été sélectionné. L'analyse des réponses constitue une étape clé puisqu'à son issue, le modèle de réponse, qui sera à la base des prédictions et des conclusions de l'étude, sera accepté. Cette analyse s'effectue en plusieurs étapes où la pertinence et l'adéquation du modèle postulé sont jugées [206,207].

1.5.6.7. Présentation des résultats

La représentation géométrique d'un plan d'expériences est utile pour imaginer la position des points expérimentaux dans le domaine d'étude mais celle-ci devient difficile lorsque le nombre de facteurs est supérieur à trois.

I.6. Conclusion

De cette étude bibliographique, il ressort que les fruits de cactus (genre *Opuntia* en particulier) sont originaires du Mexique. Ils sont introduits en Europe à travers le sud de l'Espagne suite à la première expédition de Colombus au nouveau monde. Par la suite, ils ont été propagés dans tout le Bassin Méditerranéen lors du 17^{ème} siècle.

Le cactus est l'exemple typique d'espèce parfaitement convenable pour la mise en valeur des zones arides et semi-arides. Sa culture peut contribuer au développement agricole dans les zones arides et semi-arides en Méditerranée, qui a été jusqu'à maintenant largement basée sur des espèces provenant des régions tempérées et tropicales, et qui nécessitent des quantités importantes d'intrants, surtout en matière d'eau.

La figue de barbarie présente un intérêt nutritionnel intéressant. Sa consommation à l'état frais apporte des quantités non négligeables en nutriments de base et en minéraux. Elle peut apporter des saveurs nouvelles et subtiles à l'alimentation ainsi que des compléments nutritionnels aussi variés qu'appréciables : de la vitamine C, de nombreux minéraux et oligo-éléments, des polyphénols et des pigments bétalaines ayant des pouvoirs antioxydants non négligeables. C'est un fruit particulièrement bien pourvu en calcium, magnésium, fer et cuivre. Ces caractéristiques permettent de classer la figue de barbarie parmi les aliments nutraceutiques par excellence.

En plus, la figue de barbarie constitue une source prometteuse de pigments bétalaines naturels dont le pouvoir antioxydant leur procure une place importante parmi les colorants alimentaires. Pour cela, nous avons décrit, pour les pigments bétalaines, la classification, les structures, les fonctions au niveau des plantes, la voie de biosynthèse, les utilisations et bénéfices sanitaires, la stabilité et les méthodes de caractérisation.

Nous avons aussi présenté dans cette partie des éléments bibliographiques essentiels relatifs à la méthodologie des plans d'expériences. En tout premier lieu, les différents types de variables ont été recensés et présentés. Nous avons aussi donné la définition du domaine d'étude. Le deuxième volet de ce chapitre a porté sur un aspect fondamental de la MPE : la modélisation, avec les principales techniques mathématiques utilisées pour exprimer les variations des réponses en fonction des valeurs des facteurs.

Les MPE constituent avant tout un outil de gestion et d'organisation d'une campagne expérimentale dont le but consiste à apporter des éléments d'information, facilement interprétable. Pour ce faire, la définition des expériences à réaliser doit permettre de construire un modèle d'exploration du domaine expérimental, ce modèle étant l'élément clef de la stratégie. Il existe naturellement plusieurs familles de modèles, en étroite adéquation avec les objectifs des expérimentateurs.

Partie II :

Étude Expérimentale

Chapitre I.

Matériel et Méthodes

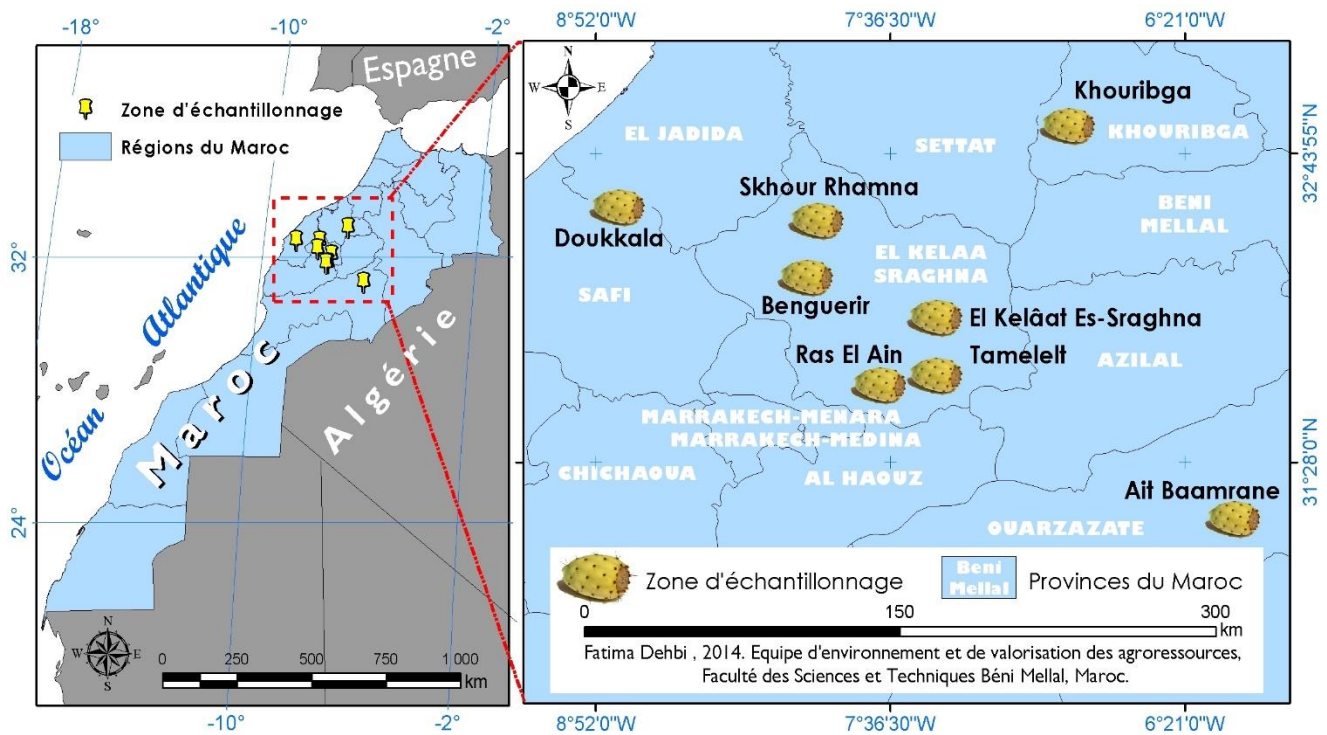
Chapitre I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal de la présente étude est composé des figues de barbarie de neufs cultivars Marocains provenant des huit principales régions marocaines de production à savoir : Khouribga, Skhour Rehamna, El Kelaa, Tamellalet, Ras Elain, Ben Guerir, Doukkala et Ait Baamrane (tableau 7).

Tableau 7 : Caractéristiques géographiques des régions étudiées [208].

Provenance	Latitude N	Longitude W
Khouribga	32°53'	6°54'
SkhourRehamna	32°29'	7°55'
El Kelaa	32°02'	7°24'
Tamellalet	31°49'	7°30'
Ras Elain	31°48'	7°34'
Ben Guerir	32°14'	7°57'
Doukkala	32°35'	8°39'
Ait Baamrane	29°23'	10°10'



Au moment de la récolte, trois lots ont été collectés pour chaque cultivar, chaque lot est composé approximativement de 5 Kg de fruits.

I.2. Préparation des échantillons pour analyse

Les fruits ont été lavés et épluchés. La pulpe et le jus ont été séparés des graines par tamisage. Le jus ainsi obtenu a été centrifugé pour éliminer la pulpe, filtré puis conservé à -20°C.

I.3. Détermination des caractéristiques physiques

A l'aide d'un pied à coulisse, on a mesuré la longueur et le diamètre des fruits. Les fruits des différents lots ont été pesés. Ces mesures nous ont permis d'avoir une idée sur la forme des fruits des différents lots.

Après épluchage, l'écorce et la pulpe ont été aussi pesés. Les graines ont été lavées abondamment avec l'eau, séchées à 60°C pendant 24 h, puis pesées. Après obtention du jus, son poids est mesuré et le pourcentage en jus de chaque fruit a été déterminé.

I.4. Détermination des caractéristiques physico-chimiques

I.4.1. Détermination du pH

La mesure du pH des jus a été effectuée par un pH-mètre de type CRISON «micro pH 2000» préalablement étalonné par des solutions tampons de pH 4 et pH 7.

I.4.2. Degré brix (°Brix)

Le degré Brix a été déterminé dans les différents échantillons analysés en utilisant un réfractomètre (Type : ATAGO's Abbe réfractomètre 1T/4T).

I.4.3. Acidité totale

Le titrage de l'échantillon se fait à l'aide d'un pH-mètre, avec une solution de NaOH 0,1N, jusqu'à l'obtention d'un pH égal à 8,1 [211]. Les résultats sont exprimés en g d'acide citrique monohydraté par Kg de jus.

I.4.4. Teneur en matière sèche

La matière sèche est déterminée par étuvage des échantillons de jus à une température de 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante.

I.4.5.Taux en cendres totales

Une quantité connue de jus est évaporée à sec, carbonisée sur un bec de gaz puis calcinée avec précaution dans un four à moufle à une température voisine de 525°C. La calcination doit être effectuée de telle sorte que la totalité des cations (excepté l'ammonium) soient retrouvés principalement sous forme de carbonates ou d'autres sels minéraux anhydres. La pesée du résidu obtenu, permet de calculer la teneur en cendres totales dans l'échantillon.

I.4.6.Teneurs en sucres

L'analyse des sucres a été réalisée par emploi de la méthode de Bertrand [212]. Le dosage proprement dit consiste à recueillir le précipité d'oxyde cuivreux Cu_2O formé par réduction de la liqueur cupro-alcaline en présence des sucres directement réducteurs et à le doser par manganimétrie.

I.4.7.Teneur en fibres

La teneur en fibres totales a été déterminée selon la méthode AOAC 982,29 [213]. Elle repose sur la précipitation sélective des fibres par l'addition de différentes concentrations d'éthanol. Pour ce faire, 10 ml d'eau sont ajoutés à 0,5 g de l'échantillon dans un tube falcon. Après incubation à 100 °C dans un bain marie pendant 10min, la solution est refroidie et 40 ml d'éthanol absolu sont ajoutés.

Le mélange est incubé pendant 30 min à 0°C. Après une première centrifugation à 5000 t/min pendant 10 min, le surnageant est éliminé et le précipité est lavé avec 50 ml d'éthanol à 85%. Le précipité obtenu subit par la suite deux lavages avec 50 ml d'éthanol absolu et centrifugation à 5000 t/min. Le culot récupéré est lavé avec 50 ml d'acétone pour être séché à température ambiante pendant 24 h.

I.4.8.Protéines

La concentration totale en protéine du jus de figue de barbarie est déterminée par la technique mise au point par Bradford (Bradford 1976) [214]. Cette technique utilise du bleu de Coomassie qui a la propriété de s'adsorber sur les protéines de manière non spécifique et indépendamment de leur séquence. Cette adsorption s'accompagne d'une modification du spectre d'absorption de la molécule qui est décalé vers le bleu.

A 50µl du jus, on ajoute 2 ml du réactif de Bradford. Après agitation, le milieu réactionnel est incubé à température ambiante pendant 15min et la densité optique est lue à 595nm. Les résultats sont exprimés en g par kg du jus.

I.4.9.Teneur en minéraux

Le contenu des échantillons de jus de figue de barbarie en minéraux a été déterminé selon la méthode **d'Osborne et Voogt [215]**. Les cendres ont été diluées avec 0,1 N d'acide chlorhydrique et de l'eau distillée et déminéralisée.

Les éléments minéraux : Potassium, Calcium, Sodium, Zinc, Cuivre, Fer et Magnésium ont été dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique (UNICAM 929 AA Spectrometer "ATIUNICAM") sur les filtrats préparés à partir des cendres totales. Le spectrophotomètre d'absorption atomique est muni de lampes à cathode creuse spécifiques de chacun des éléments à doser et réglé à une longueur d'onde optimale. Les mesures effectuées sont comparées à celles des étalons réalisés pour chaque cation. Ces derniers sont préparés au moment de l'analyse. Les résultats exprimés représentent la moyenne de trois essais.

Le phosphore a été déterminé par la méthode colorimétrique **[216]**. Ce dosage a été effectué sur les filtrats préparés à partir des cendres de jus de figue de barbarie. Le principe de la présente méthode repose sur la réduction du phosphomolybdate d'ammonium par le vanadate d'ammonium. Cette réduction provoque la formation d'un composé dont la coloration est proportionnelle à la teneur en phosphates. Les solutions étalons ont été préparées en même temps que les solutions à doser.

I.4.10.Dosage des composés phénoliques

Les composés phénoliques totaux ont été estimés par la méthode de **Singleton et al [217]** citée par **Wolfe et al [218]**. Elle évalue l'ensemble des composés phénoliques réducteurs du réactif phosphomolybdo-tungstique ou réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Elle est basée sur une réaction d'oxydoréduction au cours de laquelle, la fonction OH des phénols est oxydée pendant que le FCR est réduit. Une prise de 50 µl de jus de figue de barbarie a été combinée avec 250 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Les tubes ont été agités au vortex pendant 15 secondes. Puis, 1.5 ml de carbonate de sodium (7%) est ensuite ajouté aux tubes et enfin le mélange a été dilué par 5 ml d'eau

distillée et désionisée. Les tubes ont été conservés à l'obscurité pendant 90 min et l'absorbance a été mesurée à 727 nm. Les teneurs en phénoliques totaux sont exprimées en µg équivalent d'Acide Gallique (EAG) par g de jus de figue de barbarie.

I.4.11. Dosage des flavonoïdes totaux.

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium [219]. Une quantité de 1 ml de l'extrait a été mélangée avec 4 ml d'eau bidistillée et 300 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5%. Après 5 min, 300 µl d'une solution d'AlCl₃(10%) a été ajoutée. A la sixième minute, on ajoute 2 ml de NaOH (1M) au milieu réactionnel. Le volume de la solution est immédiatement ajusté à 10 ml par l'eau distillée. L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Le contenu en flavonoïdes a été calculé à partir de l'équation du courbe étalon à la quercitine. Les flavonoïdes totaux sont exprimés en µg de quercitine par g de poids sec de jus de figue de barbarie.

I.4.12. Dosage des flavonols

Les flavonols ont été dosés par la méthode de **Yermakov et al. [219]**. Dans un tube à essai, on additionne 2 ml d'extrait et 2 ml de la solution de trichlorure d'aluminium à 20% (préparé dans de l'éthanol). 6 ml de la solution d'acétate de sodium (50%) a été ajoutée à l'ensemble. L'absorbance est lue à 440 nm après 2h et demi d'incubation à température ambiante. Les résultats ont été exprimés en µg équivalent de rutine par g de poids sec de jus de figue de barbarie.

I.5. Evaluation de l'activité antioxydante

I.5.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante est basée sur la réduction de l'absorbance à 517 nm lorsqu'un radical libre stable de 2,2-diphényl-picrylhydrazyl (DPPH.) est réduit. La méthode utilisée est celle décrite par **Campos et al. [223]**. 1 ml de chaque solution méthanoïque des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 250 µl de la solution méthanoïque du DPPH (6 mg/100ml). La lecture de l'absorbance est faite pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

La concentration d'extrait réduisant 50% de DPPH initial (EC50) a été déterminée graphiquement par la régression linéaire à partir de la courbe donnant l'AAR en fonction de la concentration d'extrait.

I.5.2. Test d'ABTS

La méthode rapportée par [Re et al. \[224\]](#) a été utilisée. Elle est basée sur la décoloration d'un cation radicalaire stable, ABTS•+ (2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) en ABTS en présence de composés anti radicalaires à 734 nm car le cation radicalaire chromophore ABTS•+ de couleur bleu-vert directement produit par réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium a une absorption maximale à cette grandeur.

Préparation de la solution de ABTS•+ :

Une solution de persulfate de potassium à 2,5 mM est ajoutée à une solution de 7 Mm d'ABTS dans l'eau pour obtenir une concentration finale de 3,5 mM. Le mélange est agité pendant 16 h à l'obscurité et à température ambiante pour former le radical cation ABTS•+. Le mélange a été ensuite dilué dans le méthanol jusqu'à obtention d'une absorbance d'une valeur de $0,70 \pm 0,02$ à 730 nm. 2.9 ml de la solution ABTS•+ (immédiatement utilisé après préparation) ont été ajoutés à 100 µl de l'extrait méthanolique. Le mélange est ainsi conservé à l'obscurité pendant 6 minutes et les absorbances sont lues à 734 nm au spectrophotomètre. Les résultats ont été exprimés en mmol de Trolox équivalent par gramme de poids sec d'échantillon (mmol TE/g).

I.6.Évaluation de l'activité anticancéreuse

I.6.1. Culture cellulaire

Les lignées de cellules tumorales sont maintenues en cryoconservation dans l'azote liquide. Préalablement à leur utilisation pour les différents tests, les cellules subissent deux à trois passages après leur décongélation et mise en culture.

Les cryotubes sont récupérés de l'azote liquide et leur contenu est rapidement décongelé et transféré dans des tubes à centrifuger en présence du milieu de culture. Ce lavage par centrifugation à 1400 tours/minute pendant 10 min est effectué 2 à 3 fois pour éliminer

le DMSO. Après lavage, le surnageant est jeté et le culot récupéré. Ce dernier contenant les cellules est mis en culture dans des flacons à col incliné et ventilés. L'incubation est effectuée dans une atmosphère humide à 37°C et à 5% de CO₂.

Pour toutes ces lignées, les passages sont effectués sur les cultures quand les cellules sont confluentes.

Avant de décoller les cellules adhérentes s'ont lavé par du PBS sans calcium et magnésium après avoir jeté le surnageant. Ce lavage a pour but d'éliminer les traces restantes du sérum de veau fœtal qui est considéré comme un inhibiteur de l'action de la trypsine. La seconde étape est l'addition dans le flask de culture de 1ml de trypsine-EDTA (0,25% et 0,1% respectivement). Ensuite, les cellules sont incubées à 37°C. Ces dernières se décollent du plastique au bout de quelques minutes. La suspension cellulaire est alors récupérée et lavée deux fois par centrifugation avec du PBS puis répartie dans de nouveaux flasks à raison de 250µl chacun. Chaque flask contient 5 à 10 ml (selon la densité cellulaire de l'inoculum estimée par comptage des cellules viables par exclusion au bleu de trypan) de milieu de culture DMEM complet supplémenté avec 5% de SVF, 100 UI/mL de pénicilline, 100µg/mL streptomycine et 0,2% de sodium bicarbonate). L'incubation est effectuée dans une atmosphère humide à 37°C et à 5% de CO₂. [220].

I.6.2. Test de cytotoxicité

Pour déterminer l'activité antitumorale (cytotoxicité) in vitro de nos jus nous avons réalisé le test de cytotoxicité contre la lignée cellulaire P815 (mastocytome murin)

I.6.2.1 Culture cellulaire

Avant de réaliser le test de cytotoxicité, on procède au comptage des cellules viables par comptage à l'exclusion au bleu de trypan. Le but étant d'obtenir une suspension de 1 à 1.5 x 10⁴cells/mL à incuber dans 100µl de milieu de culture complet par puits à fond plat des plaques de micro-culture de 96 puits (Bioster, Bastia di Rovolon, Italy). Cette micro-culture ainsi obtenue est mise en incubation 24 heures avant la réalisation des tests de cytotoxicité.

Ce dernier est alors effectué en appliquant des doses décroissantes de nos extraits obtenues par des dilutions allant de demi en demi, dans 100 µL de milieu DMEM, en

partant de la concentration initiale de 0 µg/mL. La concentration la plus forte du test à savoir 50µg/mL ainsi obtenue, est celle du premier puits de chaque plaque de micro-culture. Les puits suivants recevront successivement 100µM dilué de demi en demi. Chaque essai est réalisé en double et répété trois fois avec les témoins positifs et négatifs.

Les composés sont tout d'abord solubilisés dans du DMSO dont la concentration finale, lors du test, n'excédera pas 2% (cette concentration n'ayant pas d'effet sur la croissance cellulaire). Ces micro-cultures sont incubées en présence des extraits à 37°C en atmosphère humide contenant 5% de CO₂ pendant 48 heures.

I.6.2.2.Évaluation de l'activité cytotoxique

La détermination de l'activité antiproliférative est réalisée en évaluant la concentration de l'extrait inhibant 50% de la croissance cellulaire (CI50) par rapport à un témoin cultivé dans les mêmes conditions en l'absence du composé étudié. Ce test simple et rapide permet de réaliser une sélection rapide des molécules ou composés présentant une activité susceptible de limiter ou stopper la croissance des cellules cancéreuses.

La révélation de l'action cytotoxique est effectuée à l'aide du réactif MTT : 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide [221].

Ce test est réalisé comme décrit et modifié par Mosmann, 1983. Au bout de la période d'incubation et dans les conditions de culture citées ci-dessus, on ajoute 20 µl d'une solution de MTT (5mg/mL de PBS). Après 3 heures d'incubation dans les mêmes conditions de culture, les cristaux violets formés suite à la réduction du MTT par les déshydrogénases mitochondriales des cellules vivantes sont solubilisés en rajoutant 100 µl d'une solution de HCl / Isopropanol (24 :1). On procède ensuite à la lecture de la densité optique (DO) à deux longueurs d'ondes 540 nm et 630 nm en utilisant le lecteur spectrophotométrique de microplaques Multiscan EX. Ainsi, l'effet cytotoxique de nos extraits (pourcentage de lyse des cellules), peut être mesuré en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ de lyse} = \frac{(DO - DO_0)}{DO_0} \times 100$$

Avec

DO : densité optique correspondant aux cellules traitées par nos extraits.

DO₀: densité optique correspondant au contrôle négatif (cellules non traitées).

I.7. Analyse des pigments bétalaines

Le mélange de jus de figue de barbarie et de méthanol (1:5) (v/v), a été homogénéisé par agitation magnétique. L'homogénat a été filtré sur un filtre en nylon (0,45 µm). Ensuite, nous avons enregistré les spectres d'absorption UV Visible des extraits méthanoïques obtenus à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu UV Visible 160A, Tokyo, Japon) équipé de cuves en quartz de 1cm.

La concentration en pigments bétalaines a été évaluée par la loi de Ber Lambert .Les résultats sont exprimés en mg d'indicaxanthine par Kg de jus en utilisant la formule suivante.

$$BC \text{ ([mg/L])} = A \times DF \times MW \times 1000 / \epsilon \times L \quad (\text{Equation 1}) \text{ [222].}$$

BC : Concentration de bétalaines

A : représentant l'absorbance de pigment bétalaines : à 482nm pour les bétaxanthines et à 532 pour les bétacyanines.

DF : le facteur de dilution.

ϵ et MW : représentent respectivement, le coefficient d'extinction molaire et le poids moléculaire du pigment bétalaines.

Pour les bétacyanines : (ϵ =60,000 L/mol cm en H₂O ; λ =532 nm; MW=550 g/mol)

Pour les bétaxanthines : (ϵ =48,000 L/mol cm in H₂O; λ =482nm; MW=308 g/mol).

L: la longueur de parcours de la cuvette.

I.8. Évaluation de la stabilité thermique des bétaxanthines

L'étude de la dégradation thermique des bétaxanthines a été réalisée par traitement des jus à différentes températures dans des bains thermostatés. Des quantités de 5 ml de jus ont été introduites dans des tubes en verre fermés, pour éviter le changement de l'activité de l'eau du jus pendant le chauffage [226], puis ces tubes ont été placés dans

des bains thermostatés réglés à des températures variant de 70 à 100°C.

Pour chacune de ces températures, différentes périodes d'incubation allant de 5 à 60 minutes ont été examinées. Après traitement thermique, les échantillons ont été immédiatement refroidis dans un bain de glace.

Les spectres d'absorption des solutions ont été enregistrés avant et après traitement. Le taux de rétention R des pigments a été calculé suivant la formule suivante :

$$R (\%) = [B_x (T=X^\circ C) / B_x (T=25^\circ C)] \times 100 \quad \text{(Equation 2) [13]}$$

$B_x(T=X^\circ C)$: Concentration en pigments à une température X

$B_x(T=25^\circ C)$: Concentration en pigments à température ambiante

I.8.1. Effet du pH sur la stabilité des bétalaines

L'étude de l'effet du pH sur la stabilité des bétaxanthines a été effectuée par utilisation de l'acide chlorhydrique (1M, analyticalgrad, ALDRICH, Deisenhofen, Germany) et l'hydroxyde de sodium (2%, analyticalgrad, ALDRICH, Deisenhofen, Germany) pour régler les pH des jus.

I.8.2. Effets de la présence des stabilisants des bétalaines

L'effet de l'addition des stabilisants sur la stabilité des bétaxanthines a été étudié. Pour cela, deux stabilisants : acide citrique et acide ascorbique (pure, ALDRICH, Deisenhofen, Germany) ont été testés. Une gamme de concentration (0%; 0.1% et 1%) (V/V) d'acide citrique ou d'acide ascorbique a été ajoutée à des solutions pigmentaires préalablement ajustées à des pH différents.

I.8.3. Effet de la température sur la stabilité des bétalaines

Les échantillons obtenus ont été traités à différentes températures : entre 70 et 100°C pendant des durées allant de 5 et 60 min ; chaque ensemble du traitement d'échantillon a été traité dans l'obscurité ou avec l'exposition à la lumière.

I.9. Analyses statistiques

Les données obtenues ont été traitées par analyse de la variance et les moyennes significativement différentes ont été séparées par le test de Duncan à un seuil de

probabilité de 5 % en utilisant le logiciel « statistica version 7 ».

Chapitre II :
Caractérisation physico-chimique du jus de la
figue de barbarie.

Chapitre II : Caractérisation physico-chimique du jus de la figue de barbarie.

- Introduction :

Le cactus a été largement ignoré par les scientifiques jusqu'au début de 1980, ce regain d'intérêt est attribué en partie à la multifonctionnalité des fruits de figuier de barbarie. Des études récentes ont révélé leurs teneurs élevées en certains composants chimiques, qui peuvent apporter à ce fruit une valeur nutritionnelle ajoutée, tels que la taurine, le calcium, le magnésium, les composés phénoliques et les bétalaines.

Le cactus marocain représente une très grande variabilité génétique, plusieurs cultivars existent et se distinguent par la période de floraison (précoce, tardive), la couleur de la fleur (jaune, orange et rose), la couleur du fruit et de la pulpe (verte, jaune, orange, rouge et pourpre), la forme des fruits (ovoïde, ronde ou oblongue), les caractéristiques organoleptiques des fruits, et la teneur en antioxydants.

Les fruits de figuier de barbarie présentent une variabilité dans la forme, la couleur, le poids, la teneur en sucre, en acides et en antioxydants, etc. Ces différents paramètres varient d'un cultivar à l'autre et sont fortement influencés par l'environnement. Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à l'étude de quelques paramètres physico-chimiques des différentes composantes des fruits de neuf cultivars présents dans les différentes régions de royaume. Il s'agit des cultivars : *Skhour Rehamna*, *Alkalaa*, *Tamellalet*, *Ras Elain*, *Ben Guerir*, *Doukkala*, *Ait Baamraneet* *Khouribga*.

- **Publication 1:**

**Physicochemical Characteristics of Moroccan Prickly Pear
Juice (*Opuntia ficus indica* L.)**

Fatima Dehbi, Aziz Hasib*, Aziz Ouatmane, Abderrahim Jaouad, Hicham Elbatal

Laboratory of Environment and Valorisation of Agro resources; University Sultan Moulay Slimane.

Faculty of Sciences and Technology; Beni-Mellal; Morocco

**Email: azhasib@yahoo.fr*

International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering
Volume 4, Issue 4, April 2014

Abstract— The cactus prickly pears rich in micronutrients, has recently generated a great deal of consumer interest, therefore, this paper was designed to study its physical and chemical compositions such as: moisture, sugar content, total fibres, protein, ash, pH, acidity, minerals contents and total phenolics contents of nine prickly pear juices. Polyphenols are antioxidants who contribute to the nutritional prickly pears quality and of their products of transformation.

Keywords— *Prickly pears, juices, composition, moisture, sugar, fibre, protein, ash, pH, acidity, minerals contents, phenolics contents*

II.1. Introduction

Cactus prickly pears “*Opuntia ficus indica* L.” is a member of the Cactaceae family and is an important forage crop for livestock in many arid and semi-arid regions of the world. It is widely distributed in Mexico and in all American hemispheres as well as in Africa and in the Mediterranean basin (1). This plant is pointed out as relevant health promoting food with a great number of potentially active nutrients, the fairly high sugar content and low acidity of the fruit (2,3) give it a delicious, sweet taste, but at the same time make it very susceptible to microbial invasion, thus limiting its storage life in the fresh state.

Both the cladodes and fruits are frequently consumed both fresh and processed in Latin America (4), whereas only the fresh fruits are more widespread on European and North-

American markets (5). Cactus pear is usually consumed fresh, but it is also put to different traditional and industrial uses (6).

Opuntia fruits, also known as cactus pears or prickly pears, are regionally consumed as fresh fruit, juice, sweets, etc., but also exported for the European fresh fruit market (6,7). The extracted pigments from prickly pear fruits are used as additives in food, cosmetic, and pharmaceutical preparations (2,3).

The composition of cactus pear fruits was studied during the maturation period (8), whereas the seeds, skin and pulp were compared in terms of carbohydrate and mineral composition (8,9). All the authors have agreed that “*Opuntia ficus indica* L.” juice was rich in minerals and vitamins (8-11), and may potentially be included in animal and human diets. Recently, it could be concluded that cactus fruit juice positively affects the body’s redox balance, decrease oxidative damage to lipid and improve antioxidant status in diabetic rats (12).

In the other hand, fruit and juice of this plant are known by the presence of betalains (betanin and indicaxanthin), rarely found in fruits (they occur in red beets), and also elevated in polyphenolic flavonoids (quercetin, kaempferol and isorhamnetin) and various carotenoids, which have antioxidant activity and may protect against human disease (7,13). These fruits have shown several effect such as antiulcerogenic (14), antioxidant (13-15), anticancer (13,16) and hepatoprotective activities (17).

In this study, the cactus pear composition and its chemical characteristics were investigated in nine different types of Moroccan prickly pears juices.

II.2. Materials and Methods

II.2.1. Raw Materials

The cactus pears were collected from wild populations of *Opuntia* L. located in different area in Morocco at *Khouribga* (32°5’N, 6°54’W), *Skhour Rehamna* (32°29’N, 7°55’W), *Alkalaa* (32°02’N, 7°24’W), *Tamellalet* (31°49’N, 7°30’W), *Ras Elain* (31°48’N, 7°34’W), *Ben Guerir* (32°14’N, 7°57’W), *Doukkala* (32°35’N, 8°39’W) and *Ait Baamrane* (29°23’N, 10°10’W). For each species, three different lots of fruits were harvested at the end of August at maximum full maturity without being overripe, carefully washed with water to remove the glochids and the obtained juice was

centrifuged (4000 x g , 30min at 4°C) and the supernatant juice was stored at -20°C before being used.

The whole fruit weight (FW), skin weight (SW), pulp weight (PW), core weight (CW), seeds weight (SDW), fruit length (FL) and fruit diameter (FD) of samples were measured immediately after harvest. The fruit diameter and length were measured using callipers. The fruits were washed and the prickles and glochides on the peel surface were removed under running tap water by rubbing. After the free water drained from the fruits, their weight was recorded. Fruits were cut longitudinally, the flesh and thick peel were separated, and the weights of these fractions were recorded. Seeds were washed under running water several times on a screen (700 micron) to separate the seeds from the pulp, and then drained. They were dried at 60 °C for 24 h and weighed.

For analysis, triplicate determinations were performed on each sample; data shown later represent the means of three measurements.

II.2.2. Experimental Material

The °Brix was determined using a refractometer (ATAGO's Abbe refractometer 1T/4T). The total acidity was determined on 10 ml of juice by measuring the volume of 0,1 N NaOH necessary to take the sample to pH 8.1, which was monitored potentiometrically (18). Experiments were carried out on juices from the three lots for each cultivar.

The sugar content was established by using the Bertrand method (19). This dosage consists in collecting the precipitate of the copper (II) oxide formed by reduction of the cupro-alkaline liqueur in presence of reducing sugars, and to measure it out by manganimetry. Bertrand's tables give the correspondence directly between the volume of KMnO₄ (0,1N) used and content of glucose of the trial hold.

The protein was measured by using the Bradford method (20). This method is based on a colorimetric proportioning detecting the change of color of blue of Coomassie at 595 nm, after complexation with the aromatic amino acids and the hydrophobic residues of the amino acids present in the solution.

The crude fibre was determined according to the 991.42 and 993.19 AOAC methods.

For mineral analysis, samples were incinerated in muffle furnace at 525°C for 24h. Ashes were quantified gravimetrically. The ashes were diluted with hydrochloric acid 0,1N and with distilled and demineralised water. Calcium, potassium, magnesium, sodium, zinc, iron and copper content was analysed by atomic absorption spectrophotometry using an UNICAM 929 AA Spectrometer. Phosphor was measured by the colorimetric method.

The total phenolic contents of prickly pear juice samples were determined using a modified Folin-Ciocalteu method cited by Wolfe et al. (21). The measurement was expressed as gallic acid equivalents in micrograms per gram of juice.

II.3.Result and Discussion

II.3.1.Physical and Chemical Characteristics of Cactus Fruit Juice

The morphological characteristics of cactus pear investigated in this study are given in Figures 1, 2, 3, 4. The fruit properties differed significantly among locations. The samples from the *Ben Guerir* location was comprised with higher fruit diameter and length, but the red fruit of *Khouribga* was characterized by high fruit, core and pulp weights compared to those collected from the other locations. Furthermore, red fruits of *Khouribga* samples possessed the highest fruit weight (113 g).

The fruits from the other locations: *Alkalaa*, *Skhour*, *yellow of Khouribga*, and *Ras Elain* were statistically of the same weight (Figure 1). The same trend detected for the fruit weights also was observed for the core weights of the cactus-pear samples.

The mean values of the pulp weights of the different locations ranged from 38 to 64 g, with the *red fruit of Khouribga* samples having highest pulp weight. There were significant differences among locations concerning the weight seed of the fruits (Figure 3). Although the red fruits collected from *Khouribga* and *Ait Baamrane* had the highest fruit weights.

Studies showed that the fruit size and shape are affected by the seed number and weight (22-24). The relationship between fruit size and seed content varies with several factors, such as genotype and fruit position within the canopy (25,26). Prickly pear fruits contain totally 100 to 300 seeds (22,27). The seeds of the fruit constitute about 10% to 15% of the pulp and are discarded.

The statistical results showed that the cactus pear size and weight are affected by the location in which the cactus grows, which is in accordance with previous studies (22,23). Although, the length of fruits and the fruit diameter from each location did not differ much (Figure 2), the pulp weight differed significantly among locations.

The physicochemical characteristics of cactus fruit juice are presents in Table 1 and 2. Data showed that cactus fruit juice had the moisture content of 89,13 to 91,18% with total soluble solids (TSS) content varied from 11,33 to 15,47°Brix. This values level compares well with that recommended for cactus pear fruits (12,28). The total soluble solids content is important factor in the production of fruit juice.

These values are within the range reported by Mullen et al (29) for 13 commercially available fruit juices and drinks. The juice with the highest sugar content corresponded to Ait Baamrane with 15,47°Brix. The *yellow* and *red* of *Khouribga* juice also contained more than 13°Brix.

Stintzing et al (30) reported 14,2 °Brix for a juice extracted from the same species as Pelon. Except the juice from *Ait Baamrane* region, the prickly pears that yielded juices with high sugar contents tended to have lower acidities and as a sequence of the highest °Brix/ Acidity ratios (Table 1).

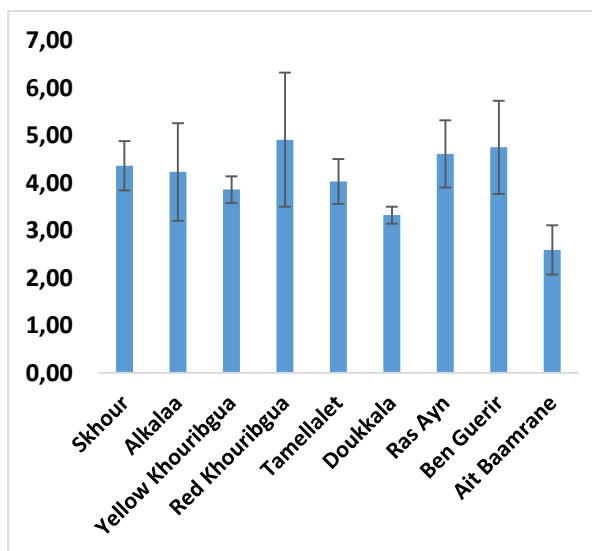


Figure 1. Variation of the seed weight (SDW) of nine Moroccan prickly pears

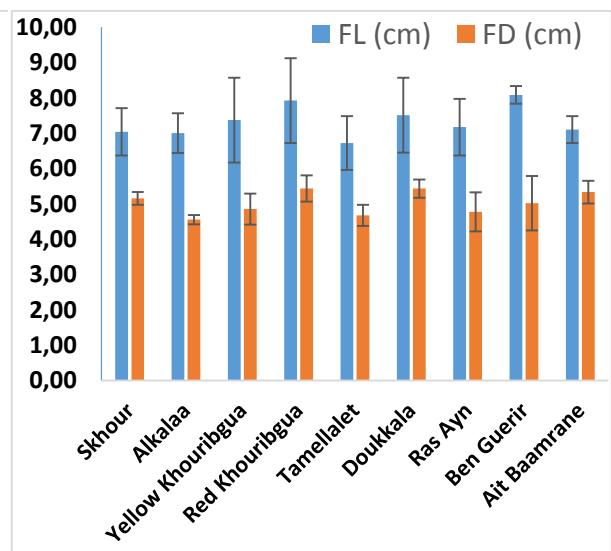


Figure 2. Variation of fruit length (FL) and fruit diameter (FD) of nine Moroccan prickly pears

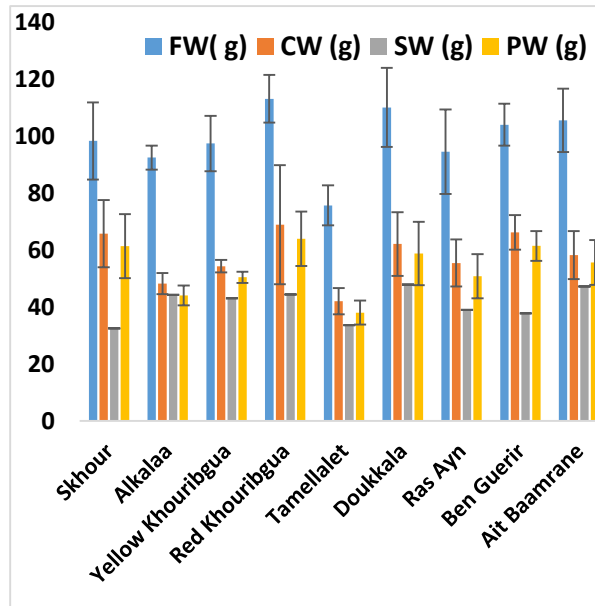


Figure 3. Variation of the fruit weight (FW), skin weight (SW), pulp weight (PW), core weight (CW) of nine Moroccan prickly pears

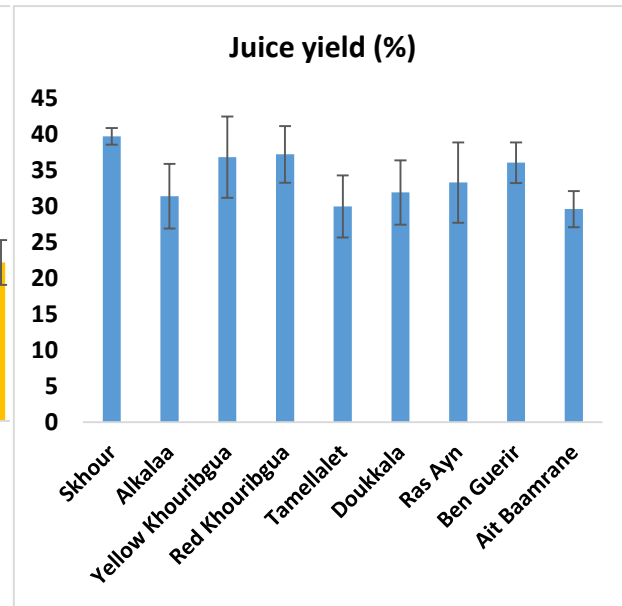


Figure 4. Variation of the yield of juices extracted from nine Moroccan prickly pears

TABLE 1: PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF JUICES EXTRACTED FROM NINE MOROCCAN PRICKLY PEARS.

<i>Cultivars</i>	Fruit characteristics	Moisture %	° Brix	pH	Acidity (%)	°Brix/Acidity
<i>Skhour</i>	Spineless, yellow peel, orange yellow pulp.	89,38±10.50	11,33±0,29	5,56±0,07	0,067±0,05	169,10±4,34
<i>Alkalaa</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp	89,47±9.24	13,05±0,50	5,63±0,05	0,049±0,06	266,32±34,94
<i>Yellow Khouribgua</i>	Spiny, green peel, green pulp.	89,18±7.25	13,76±0,52	5,95±0,06	0,046±0,01	299,13±10,62
<i>Red Khouribgua</i>	Spiny, purple peel, purple-red pulp.	89,13±8.09	13,42±1,61	5,52±0,09	0,077±0,02	174,28±6,80
<i>Tamellalet</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp	90,41±6.48	12,1±1,32	5,64±0,27	0,046±0,04	263,04±29,07
<i>Doukkala</i>	Spineless, yellow peel, orange yellow pulp.	91,15±11.05	13,58±0,52	5,45±0,16	0,081±0,01	167,65±5,31
<i>Ras Elain</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp.	90,81±7.89	11,5±2,78	5,61±0,11	0,074±0,01	155,40±36,15
<i>Ben Guerir</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp.	91,18±9.23	12,17±0,29	5,55±0,09	0,067±0,06	181,64±3,59
<i>Ait Baamrane</i>	Spineless, yellow peel, orange yellow pulp.	90,87±8.97	15,47±0,06	5,27±0,08	0,098±0,05	157,86±0,87

The set of prickly pear juices had pH's ranging from 5,45 to 5,92. The pH turns out to be very high with values of the order of 5,6 commonly measured. These results are in the range already described (5,5 to 6,4) in other cultivars, confirming that this fruit is a low acidic food (31). Also, these data were in agreement with literature data for Mexican and Argentine cultivars which reported that the pH is ranging from 5,6 – 6,5 (32,33) and with the values reported for Moroccan cultivars (5.95- 6.34) (8). Based on its high pH (5,3 to 7,1) (6,34), this fruit is classified within the low-acid group, (pH >4,5) because of the extremely low content of organic acids. *Ait Baamrane* and *Doukkala* samples contained the highest acidities followed by *red juice of khouribga* and *Ras Elain*.

Tamellalet and *yellow juice of Khouribgua* contained at least five times more acidity compared to *Amarillo*, *Pelon* and *Moradillo* (35). The pH (5,46) and acidity values (0,03%) of *Pelon* are within ranges determined by Gurrieri (31) in prickly pear juices from *Opuntia ficus indica*. According to Felker et al (33), the pH and acidity for ripen fruits is between 5,6 and 6,5 and 0,05% and 0,18%, respectively. Díaz-Medina et al (36), Vilorio-Matos et al (37) and Pimienta-Barrios et al (38), reported more acidic pH in prickly fruits collected from *Opuntia dillenii* (pH 3,3), *Opuntia boldinghii* (pH 4,9) and *Opuntia joconostle* (pH 3,2).

Whereas, the total acid content in our varieties juicy pulp was of the order of 0,46 to 0,98%, which is low in comparison with the acidity of other fruit such as orange (1,13%), strawberry (1,05%), apricot (1,40%) and kiwi (1,49%) (39).

Moreover, the results presented in Table 2, show that the pears under study have a high content of total sugar, as it is generally found in the majority of other fruits. Among the nine varieties studied it is possible to conclude that *Ait Baamrane* and *Tamellalet* cultivars are the ones that present the higher (165,77g/kg) and lower content (97,215 g/kg), respectively. In general, among of reducing sugar found in these cultivars of pears is also in agreement to Piga (28) results. However, the *Ait Baamrane* has a ratio of reducing sugar to total sugar of 0,96 that is higher than the other pear varieties, for which the ratio ranges between 0,80 and 1,08.

The results presented in Table 2, reveal that the juice of pears has low protein, ash and crude fiber contents that are in agreement to the chemical composition of pears, and are comparable to other fruits (42). The amounts of proteins in the prickly pear juices ranging from 1,14 to 3,53 g/kg. The highest content was detected in the *Ait Baâmrane* followed by *Ras Alain* and *Skhour* cultivars.

These results for fruit juices are lower than those reported for Chilean and Mexican cultivars respectively (11,40), and higher than those studied by Díaz Medina et al. and Barroca et al. (36,41). The amount of protein presented in these prickly pear juices are comparables to those found in Moroccan fruit juices presented by Hasib et al. (8).

The fibres contents of nine prickly pear fruit juices ranged from 2,86 to 6,13% and were different from each other. *Alkalaa* cultivar is characterized by highest value flowing by *Ras Elain* and *Ben Guerir* cultivars. *Doukkala* cultivar contains the lower amount of fibres. These results are similar to those reported by Díaz Medina et al. (36) and by Abd El-Razek et al. (12) in the Egyptian cactus fruit juice, but less ten time of this presented by EL Kossori et al. (9) in the Moroccan pulp of prickly pear.

The amount of ash of the fruit juices ranged from 2,76 to 4,17 (g/kg of juice). Our results are comparable to the results obtained by Hasib et al. (8). In addition, it can be stated that these properties are similar for the nine cultivars of pears studied.

TABLE 2: PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF JUICES EXTRACTED FROM NINE MOROCCAN PRICKLY PEARS.

	Total sugar (g/kg)	Reducing sugar (g/kg)	Protein (g/kg)	Ash (g/kg)	Crude fibre (%)	Total phenols µg GA eq./g of juice
<i>Skhour</i>	155,13±10,79	135,54±3,13	1,83±0,07	4,17±0,76	4,67±0,80	476,37±5,13
<i>Alkalaa</i>	103,04±14,54	99,49±04,00	1,36±0,08	4,08±0,32	6,13±0,95	632,11±5,50
<i>Yellow Khouribga</i>	154,16± 8,25	149,16±10,60	1,49±0,10	3,50±0,51	4,54±0,52	354,37±5,37
<i>Red Khouribga</i>	113,33±16,50	91,25±8,38	1,74±0,67	3,65±0,47	3,21±0,233	358,99±6,10
<i>Tamellalet</i>	97,21±04,08	101,93±10,47	1,14±0,45	2,94±0,34	3,96±0,41	467,22±3,79
<i>Doukkala</i>	102,04±10,44	110,96±12,47	1,77±0,05	3,65±0,44	2,86±0,29	394,9±7,40
<i>Ras Elain</i>	125,13±8,06	111,60±13,91	2,30±0,11	3,36±0,51	5,49±0,36	587,11±4,42
<i>Ben Guerir</i>	124,58± 8,83	97,67±8,39	1,78±0,09	2,76±0,56	4,81±0,68	524,63±7,27
<i>Ait Baamrane</i>	165,77±12,48	160,66±16,03	3,53±0,23	3,16±0,91	4,17±1,01	643,66±3,25

TABLE 3: MINERALS CONTENT OF JUICES EXTRACTED FROM NINE MOROCCAN PRICKLY PEARS.

	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	P (mg/kg)	Na (mg/kg)	K (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)
<i>Skhour</i>	257±7.45	201±1.23	276±3.25	165±7.56	1980±12.30	0,38±0.08	09,81±1.20	0,74±0.02
<i>Alkalaa</i>	240±9.63	146±4.12	206±1.45	123±4.78	1723±10.42	0,33±0.10	09,58±0.89	0,61±0.17
<i>Yellow Khouribga</i>	190±5.48	115±7.14	164±2.63	111±10.25	1520±7.45	0,27±0.06	08,64±1.05	0,43±0.12
<i>Red Khouribga</i>	289±8.16	197±9.32	282±4.54	135±5.84	1807±9.76	0,41±0.11	08,84±0.96	0,24±0.05
<i>Tamellalet</i>	203±7.14	152±2.59	254±8.02	092,65±2.64	1406±6.87	0,24±0.03	7,98±2.13	0,15±0.06
<i>Doukkala</i>	257±9.62	137±5.98	231±2.47	098,40±4.12	2209±9.87	0,46±0.20	10,08±1.58	0,51±0.25
<i>Ras Elain</i>	166±7.24	186±7.65	179±6.05	151±6.21	1681±8.64	0,19±0.11	09,5±1.95	0,31±0.11
<i>Ben Guerir</i>	200±8.65	174±3.45	209±7.12	129±3.54	1243±6.85	0,15±0.01	07,58±0.23	0,17±0.07
<i>Ait Baamrane</i>	314±10.23	212±3.21	319±2.13	174±7.12	2114±10.96	0,58±0.13	10,62±0.63	0,46±0.12

II.3.2. Minerals Content of Cactus Fruit Juice

The minerals content of cactus fruit juice is summarized in Table 3. The juice is considered a good source of minerals, our results showed that the juices of prickly pear are rich in potassium, magnesium, phosphor and calcium; however they contained low amount of sodium. Among microelements, iron content was found to be higher than zinc and copper content. The mineral pattern depends on the fruit origin and factors of the site of cultivation. Similar results have been reported in the literatures (32). Ait Baamrane is contains a high amount for almost all minerals studied compared to juices extracted from other areas.

These results quoted in this work are in harmony with those of Hasib et al. (8) and Abd El-Razek et al. (12) (except on zinc content) and higher than those obtained by Guzmán-Maldonado et al. (43), but lower than those of Piga (28), Feugang et al (7) and Dı'az Medina et al (36) (except on iron and potassium contents). The mineral pattern depends on fruit origin: the edaphic factors at the site of cultivation, differences in soil calcium contents and other minerals, thus explaining the conflicting literature data. It could be noticed that the contributions to intakes of calcium, phosphorus, potassium and magnesium were nearly moderate representing approximately 2%, 3%, 4% and 5%, respectively of the recommended dietary intakes. High levels of calcium, magnesium

and potassium are used for energy and sports drinks to uphold the mineral pool during periods of physical exhaustion, low level of sodium and chloride are preferred for preventing high blood pressure. Mineral fortification of any fruit or vegetable preparation can thus be attained easily by simply adding cactus pear juice or concentrates (32).

II.3.3. Phenolic Contents of Cactus Fruit Juice

The phenolic compounds content in the nine cultivars of prickly pear was also checked. The amount of total phenolics varied in different cultivars and ranged from 354,37 to 643,66 µg GAE/g of juice (Table 3). The highest total phenolic levels were detected in Ait Baamrane cultivar followed by Alkalaa cultivar, while lowest content was measured for the juice from Khouribga. Our results are also in the range obtained by Coria Cayupán et al. (44) (54 to 112 mg /100 g of fresh fruits from Argentina). They are, however higher than those found by Chavez-Santoscoy et al. (35) in juices from Mexican prickly pears ranging from 55,4 to 226,3µg GAE/g of juice, Maataoui et al. (45) in Chaouia-Morocco cultivar (22 to 30 mg/100 g in orange and purple varieties, respectively) and to those registered by Diaz et al. (36) for the green and orange prickly pears from island of Tenerife (17,2 mg/100 g). But these values are less than those presented by Galati et al (13) (746 µg/ml of juice of whole fruits of Sicilian cultivars of prickly pear (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) and Chang et al. (46) (915µg/g GAE in methanol extracts of fruits of *opuntia dillenii*). Factors like type of cultivar, climate condition and soil composition could explain this variability.

Therefore, cactus fruit juice could contribute to the intake of antioxidant substances.

III.1.4. Conclusion

This research shows the potential of prickly pears as an important source of natural antioxidants and nutraceuticals and may be well considered a functional food. Sophisticated analytical approaches and innovative processing technologies will open new avenues to further promote the use of cactus pear stems, fruits, juices and flowers in food, medicine, cosmetic, and pharmaceutical industries.

References:

- [1]. Acevedo A., Fonseca E., Viguer J.M., Contreras F., 1985. Use of the peroxides antiperoxidase technic in cytologic smears in pemphigus vulgaris. *Med Cutan Ibero Lat Am*, 13:237-241. Pub Med Abstract
- [2]. Sepulveda, E.; Saenz, C., 1990. Características Químicas y Físicas de Pulpa de Tuna (*Opuntia Ficus Indica*). *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 30, 51-555.
- [3]. Joubert, E., 1993. Processing of the fruit of five prickly pear cultivars grown in South Africa. *International Journal of Food Science and Technology*, 28, 377–387.
- [4]. Gurbachan S. & Felker P., 1998. Cactus: new world foods. *Indian Horticulture* 43, 29–31
- [5]. Butera D., Tesoriere L., Di Gaudio F., Bongiorno A., Allegra M., Pintaudi A.M., Kohen R. & Livrea M.A., 2002. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6895–6901
- [6]. Sáenz, C., 2000. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments* 46, 209-225
- [7]. Feugang, J.M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F.C., Zou, C., 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front. Biosci.* 11, 2574–2589
- [8]. El-Gharras, H.; Hasib, A. ; Jaouad, A.; El-Bouadili, A., 2006. Chemical and physical characterization of three cultivars of Moroccan yellow prickly pears (*Opuntia ficus-indica*) at three stages of maturity. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 5(2), 93-99.
- [9]. El Kossori R.L., Villaume C., El Boustani E., Sauvaire Y. & Mejean L., 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruits (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods Human Nutr* 52, 263-270.
- [10]. Markus R. Moßhammer, Florian C. Stintzing, Reinhold Carle, 2006. Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear : *Innovative Food Science & Emerging Technologies - INNOV FOOD SCI EMERG TECHNOL* , 7(4), 275-287
- [11]. Sáenz, C. and E. Sepúlveda, 2001. Cactus-pear juices. *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.*, 4, 3-10.
- [12]. Abd El-Razek F. H. and A. A. Hassan, 2011. Nutritional Value and Hypoglycemic Effect of Prickly Cactus Pear (*Opuntia Ficus-Indica*) Fruit Juice in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 356-377
- [13]. Dehbi F., Hasib A., Tilaoui M., El Batal H., Zaki N., Ouattmane A., Jaouad A., Zyad A., 2013. Bioactive Constituents, Antioxidant Activity and in Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Moroccan Prickly Pear (*Opuntia ficus indica* L.) Juices. *Journal of Natural Sciences Research*, 3(14), 12-20
- [14]. Galati EM, Mondello MR, Giuffrida D, Dugo G, Miceli N, Pergolizzi S, Taviano MF. 2003. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus*

- indica (L.) Mill. Fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 4903-4908
- [15]. Kuti J.O., 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia cactus* pear fruit varieties. *Food Chem.*, 85, 527–533.
- [16]. Zou DM, Brewer M, Garcia F, Feugang JM, Wang J, Zang R, Liu H, Zou C., 2005. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal*, 4, 25-36.
- [17]. Galati E.M., Mondello M.R., Lauriano E.R., Traviano M.F., Galluzzo M., Miceli N., 2005. *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller fruit juice protects liver from carbon tetrachloride induced injury. *Phytother Res*, 19:796-800.
- [18]. Tateo, F. 1978. *Analisi dei Prodotti Alimentari*; Chiriotti Editori: Pinerolo (TO), Italy.
- [19]. Browne, C.A.; Zerban, F.W. 1955. *Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis*, In J. Wiley and Sons (ed.), New York.
- [20]. Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding, *Analytical Biochemistry* 72, 248–254.
- [21]. Wolfe, K.; Wu, X.; & Liu, R. H., 2003. Antioxidant Activity of Apple Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 609-614.
- [22]. Barbera, G., Inglese, P. and La Mantia, T., 1994. Influence of seed content on some characteristics of the fruit of cactus pear, (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Scientia Hort.*, 58, 161-165.
- [23]. Bukovac, M.J. and Nagakawa, S., 1968. Gibberellin induced asymmetric growth of apple fruits. *Hortscience*, 3, 172-174
- [24]. Barbera, G., Inglese, P. and Pimienta-Barrios, E. 1995. *Agro-ecology and Uses of Cactus Pear*. FAO
- [25]. Grant, J.A and Ryugo, K. 1984. Influence of within canopy shading on fruit size, shoot growth, and return bloom kiwifruit. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 109, 799-802.
- [26]. Lawes, G.S., Wooley, D.J. and Lai, R. 1990. Seeds and other factors affecting fruit size in kiwifruit. *Acta. Hortic.*, 282, 153-156.
- [27]. Barbera, G. and Inglese, P., 1993. *La coltura del ficodindia*. Calderini Edagricole. Bologna, Italy. 189 p.
- [28]. Piga, A., 2004. Cactus pear: A fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 6, 9-22
- [29]. Mullen W., Marks S.C., Crozier A., 2007. Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 3148–3157
- [30]. Stintzing F.C., Herbach K.M., Mosshammer M.R., Reinhold C., Weiguang Y., Subramani S., Akoh C.C., Buch R., Felker P., 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *J. Agric. Food Chem.*, 53:442 451

- [31]. Gurrieri S., Miceli L., Lanza C.M., Tomaselli F., Bonomo R.P., Rizzarelli E., 2000. Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 5424–5431
- [32]. Stintzing, F. C.; Schieber, A.; Carle, R., 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *International Food Research Technology*, 212, 396-407.
- [33]. Felker P., Rodriguez S.C., Casoliba R.M., Filippinid R., Medina D., Zapata R., 2005. Comparison of *Opuntia ficus indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. *J. Arid Environ.*, 60, 405–422
- [34]. Sepúlveda, E., 1998. Cactus pear fruit potential for industrialization. *Proceedings of the International Symposium: cactus pear and nopalitos processing and uses*, C. Saenz (ed.), Santiago, Chile, 17-21.
- [35]. Chavez-Santoscoy, R. A.; Gutierrez-Uribe, J. A.; Serna-Saldívar, S. O., 2009. Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and In Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Nine Prickly Pear (*Opuntia* spp.) Juices. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 64, 146–152.
- [36]. Díaz Medina E.M., Rodríguez Rodríguez E.M., Díaz Romero C., 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. *Food Chem.*, 103, 38-45
- [37]. Vilorio-Matos A., Corbelli-Moreno D., Moreno-Alvarez M.J., Belén D.R., 2002. Stability in betalains from tuna pulp (*Opuntia boldinghii* Br. Et R.) submitted to a lyophilization proces. *Rev. Fac. Agron.*, 19, 324–331
- [38]. Pimienta-Barrios E., Méndez-Morán L., Ramírez-Hernández B.C., García de Alba-García J.E., Domínguez-Arias R.M. 2008. Effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) fruit consumption on glucose and seric lipids. *Agrociencia*, 42, 645–653.
- [39]. Souci S.W., Fachmann W., Kraut H. 1994. *Food composition. Tables of nutrition values*. 5e edition. Medpharm Scientific Publisher. CRCPRESS.
- [40]. Silos-Espino, H., Fabian-Morales, L., Osuna-Castro, J.A., Valverde, E., Guevara-Lara, F. and Paredes-López, O. 2003. Chemical and biochemical changes in prickly pears with different ripening behavior. *Nahrung/Food*, 47, 334-338.
- [41]. Barroca, M. J., Guiné, R. P. F., Pinto, A., Gonçalves, F. M. and Ferreira, D. M. S. 2006. Chemical and microbiological characterization of portuguese varieties of pears. *Food and Bioproducts Processing*, 84, 109-113
- [42]. Senser, F., Scherz, H. and München, G., 1999, *Tablas de Composición de Alimentos*, 2nd edition (Editorial Acribia, Zaragoza).
- [43]. Guzmán-Tovar, F. Vaillant and P. Brat, 2010. Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilized fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food Chem.*, 121, 381-386.
- [44]. Coria Cayupán Y., Ochoa M.J., Nazareno M.A., 2007. Health-promoting substance contents and antioxidant properties of *Opuntia* sp. fruits from Santiago del Estero, Argentina. *Proceedings of the VI International Congress on Cactus pear and Cochineal*, Brazil.
- [45]. Maataoui B.S., Hmyene A., Hilali S., 2006. Antiradical activities of extracts of cactus pear juice (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Sci. J.*, 7, 3-8.

- [46]. Chang S.F., Hsieh C.L., Yen G.C., 2008. The protective effect of *Opuntia dillenii* Haw fruit against low-density lipoprotein peroxidation and its active compounds. *Food Chem.*, 106, 569–575.

Chapitre III :
**Constituants bioactives, activité antioxydante
et cytotoxique des cellules cancérogènes du
jus de figue de barbarie**

Chapitre III : Constituants bioactives, activité antioxydante et cytotoxique des cellules cancérogènes du jus de figue de barbarie

- Introduction :

Depuis quelques années, la recherche scientifique s'intéresse de plus en plus aux valeurs médicinales des aliments et non seulement à leur apport nutritif. Les aliments contiennent des constituants alimentaires pouvant offrir une protection contre les maladies chroniques, cardio et cérébro-vasculaires, oculaires, neurologiques et quelques formes de cancers. Les avantages nutraceutiques des fruits de cactus découlent de leurs propriétés antioxydantes liés à l'acide ascorbique, les bétalaines et les composés phénoliques dont les flavonoïdes, la présence de ces différents composés a été démontrée dans les fruits des différentes variétés d'Opuntia. Les propriétés antioxydantes des bétalaines (bétanine et indicaxanthine) ont été révélées récemment, de nombreuses études in vitro ont démontré les effets bénéfiques des composés phénoliques et des bétalaines. Les figues de barbarie représentent une source riche en bétalaines, leur concentration varie entre 66 et 1140 mg/kg de fruit frais, le rapport bétacyanines : bétaxhantines varie de 0 à 11,7 selon la couleur de la pulpe.

Dans ce contexte nous avons évalué les activités antioxydantes et anticancéreuses des différents jus préparés à partir des fruits de cactus.

- **Publication 2:**

Bioactive Constituents, Antioxidant Activity and in Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Moroccan Prickly Pear (*Opuntia ficus indica* L.) Juices

Fatima Dehbi¹, Aziz Hasib^{1*}, Mounir Tilaoui², Hicham El Batal¹, Naïma Zaki¹, Aaziz Ouatmane¹, Abderrahim Jaouad¹, Abdelmajid Zyad²

1. Laboratory of Environment and Valorisation of Agro Resources. University Sultan Moulay Slimane. Faculty of Science and Technology. Beni-Mellal, Morocco.
2. Laboratory of Genius Biological. University Sultan Moulay Slimane. Faculty of Science and Technology. Beni-Mellal, Morocco

*E-mail of the corresponding author: azhasib@yahoo.fr

Journal of Natural Sciences Research Vol.3, No.14, 2013, 12-20

Abstract:

Several physico-chemical properties such as fruit pulp weight percentage, acidity, pH, soluble solid content, Antioxidant activity, total phenolic, flavonoid, flavonol and betalain content of nine selected promising cactus pear (*Opuntia ficus indica* L.) accessions were determined. The antioxidant capacity was assessed by means of two different methods: the 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (Trolox equivalent antioxidant capacity) (ABTS) method and the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical method. The results showed qualitative and quantitative differences in the physico-chemical characteristics of cactus pear accessions. Total phenolics and flavonoids content were found between 354.37 and 643.66 µg gallic acid eq/g and 24.67 and 49.03 µg catechin eq./g dry weight basis. The in vitro cytotoxicity was measured toward P-815 cell line by the growth inhibition assay determined by the MTT viability assay. We found that juice of different cultivars exert a dose-dependent growth inhibition against P-815 cell line. The results provide important information on how to make the best use of cactus pear genotypes investigated for different uses, which is of significance for both technological research and processing practice.

Keywords: prickly pears Juices acidity, sugar content, phenolics, flavonoids, flavonols, betalains, antioxidant activity, anticancer effect

III.1. Introduction:

Recently, natural foods and food derived antioxidants such as vitamins and phenolic phytochemicals have received growing attention, because they are known to function as chemopreventive agents against oxidative damage and genotoxicity. It is for this reason the consumer demand for fresh ready-to-use products has led, over the last 20 years, to increasing interest in minimally processed fruits and vegetables, as these products combine freshness and convenience (Kim et al 1993).

Medical benefits from plant forms have been recognized for centuries. Herbs have been used in Chinese medicine for thousands of years to cure diseases and heal wounds. Recently, it has been found that components in green tea and grape seeds have anticancer effects (Xu et al. 1992; Kim et al. 2004). Also, as a rule, herbs and natural products lack much of the toxicity that is present in synthetic chemicals, thus, enhancing their appeal for long term preventive strategies.

Opuntia ficus indica, has been used for many years as a common vegetable, is a member of the Cactaceae family, is an important forage crop for livestock in many arid and semi-arid regions of the world. It is widely distributed in Mexico and in all American hemispheres as well as in Africa and in the Mediterranean basin (Acevedo et al. 1985). This plant is pointed out as relevant health promoting food with a great number of potentially active nutrient, the fairly high sugar content and low acidity of the fruit (Sepúlveda & Saenz 1990; Joubert 1993) give it a delicious, sweet taste, but at the same time make it very susceptible to microbial invasion, thus limiting its storage life in the fresh state.

Both the cladodes and fruits are frequently consumed both fresh and processed in Latin America (Gurbachan & Felker 1998), whereas only the fresh fruits are more widespread on European and North-American markets (Butera et al. 2002). Cactus pear is usually consumed fresh, but it is also put to different traditional and industrial uses (Saenz 2000).

Opuntia fruits, also known as cactus pears or prickly pears (figure 1), are regionally consumed as fresh fruit, juice, sweets, etc., but also exported for the European fresh fruit market (Saenz 2000; Feugang et al. 2006). The extracted pigments from prickly pear

fruits are used as additives in food, cosmetic, and pharmaceutical preparations (Sepulveda & Saenz 1990; Joubert 1993).

The cactus pear composition and its chemical characteristics were investigated. The composition of cactus pear fruits was studied during the maturation period (El-Gharras et al. 2006), whereas the seeds, skin and pulp were compared in terms of carbohydrate and mineral, composition (El-Kossori et al. 1998). All the authors have agreed that *Opuntia ficus indica* juice was rich in minerals and vitamins (Möbhammer et al. 2006, El-Gharras et al. 2006), and may potentially be included in animal and human diets. Recently, it could be concluded that cactus fruit juice positively affects the body's redox balance, decrease oxidative damage to lipid and improve antioxidant status in diabetic rats (Fatma Hassan Abd El-Razek & Amal Hassan 2001).

In the other hand, fruit and juice of this plant are known by the presence of betalains (betanin and indicaxanthin) (El-Gharras et al. 2008), rarely found in fruits (they occur in red beets), and also elevated in polyphenolic flavonoids (quercetin, kaempferol and isorhamnetin) and various carotenoids, which have antioxidant activity and may protect against human disease (Feugang et al. 2006). These fruits have shown several effect such as antiulcerogenic (Galati et al. 2003), antioxidant (Galati et al. 2003; Kuti 2004; Tesoriere et al. 2004, Dehbi et al. 2013), anticancer (Zou et al. 2005) and hepatoprotective activities (Galati et al. 2005).

Since high antioxidant capacity is a desired feature for fruits, the aim of this study was to screen the antioxidant capacity, phenolic and betalain composition of nine different types of prickly pears juices and determine their in vitro anticancer effect.

III.2. Materials and methods

III.2.1 Raw materials

Nine cultivars of prickly pears fruits *Opuntia ficus indica* L (figure 1), grown in different area in Morocco (table 1), were selected at maximum full maturity without being overripe: yellow species from *Doukkala*; *Tamellalet*; *Ras Elain*; *Ben Guerir*; *Ait Baamrane*; *Skhour Rehamna*; *Alkalaa* and both species red and yellow from *Khouribga*. For each species, three different lots of fruits were harvested, carefully washed with water to remove the glochids and the obtained juice was centrifuged (4000 x g , 30min

at 4°C) and the supernatant juice was stored at -20°C before being used. The seeds were washed abundantly with the water to remove the pulp attached, dried at 60 °C for 24 h. The weight of different components of the prickly pear fruits was determined such as skin, pulp and seeds.

For analysis, triplicate determinations were performed on each sample; data shown later represent the means of three measurements.



Figure 1: Prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.)

Table 1. Geographic of provenance of prickly pears fruits used in the study

Area	Latitude N	Longitude W
<i>Khouribga</i>	32°53'	6°54'
<i>Skhour Rehamna</i>	32°29'	7°55'
<i>Alkalaa</i>	32°02'	7°24'
<i>Tamellalet</i>	31°49'	7°30'
<i>Ras Elain</i>	31°48'	7°34'
<i>Ben Guerir</i>	32°14'	7°57'
<i>Doukkala</i>	32°35'	8°39'
<i>Ait Baamrane</i>	29°23'	10°10'

III.2.2. Experimental material:

The °Brix was determined using a refractometer (ATAGO's Abbe refractometer 1T/4T). The total acidity was determined on 10 ml of juice by measuring the volume of 0.1 N NaOH necessary to take the sample to pH 8.1, which was monitored potentiometrically (Tateo 1978).

The total phenolic contents of prickly pear juice samples were determined using a modified Folin-Ciocalteu method cited by Wolfe et al. (Wolfe et al. 2003). The measurement was expressed as gallic acid equivalents in micrograms per gram of juice. All determinations of Betalains contents were performed on a UV/Vis spectrometer. The pigments were extracted using the methanol. The betalain content was expressed as mg/L and calculated according to literature (Cai et al. 1998).

The flavonoid content was measured using a colorimetric assay developed by Zhishen et al.(1999). Absorbance was read at 510 nm against the blank (water) and flavonoid content was expressed as μg catechin equivalents/ g DW.

The amounts of flavonols were determined by the method of Yermakov et al. (1987). The same procedure was obtained from a mixture of 2 ml of diluted juice solution, 2ml of aluminium trichloride and sodium acetate. The absorbance at 440nm was recorded. The flavonols content was expressed as rutin equivalents.

The total antioxidant activity of fruit extracts was evaluated using the ABTS radical cation decolorization assay (Miller et al. 1996). ABTS.+ was prepared by reacting ABTS with potassium persulfate (Pellegrini et al. 1999).

The free radical-scavenger activity was determined by the DPPH assay, as described previously by Campos et al. (Campos et al. 2003). Antiradical efficiency was established using regression analysis at a 95% significance level ($P < 0.05$). Results are presented in EC50 values, which represent the weight of sample required to scavenge 50% of the DPPH radicals available.

The determination of in vitro cancer cell viability was performed on the cell lines after six passages as previously described by Mossman 1983 and Tilaoui et al. 2011. Briefly, tumor cells were trypsinized, when adherent, (0.15% trypsin, 0.1% EDTA) and 1 to 1.5 x 10⁵ cells/mL were incubated in flat-bottomed 96-well micro titer plates (Bioster, Bastia di Rovolon, Italy) in 100 μL of complete medium. Appropriate dilutions of *Opuntia ficus indica* juices and adriamycin all solubilized in sterilized distilled water were carried out in culture medium before their addition to the cultured cells (final culture volume of 200 μL). After 48 h incubation in humidified atmosphere, at 37 °C and 5% CO₂, 20 μL of MTT (5 mg/mL PBS) were added in each well. After 3 h

incubation at 37 °C and 5% CO₂, 100 µL medium was carefully removed from each well and replaced with 100 µL. Isopropanol-HCl (1:24). After 10 min incubation at 37 °C the solubilized formazan produced by metabolically active cells was measured by scanning the 96-well plates at dual wavelength of 540-630 nm using a Multiskan apparatus (Labsystem, Helsinki, Finland). Using this colorimetric procedure, nine juices and adriamycin, cytotoxic effects could be measured as compared to the viability of untreated cells receiving distilled water alone, according to the following calculation:

$$\% \text{ cell killing} = 100 \times (1 - (\text{ODt} / \text{ODo}))$$

Where ODo and ODt are the optical density obtained respectively for untreated and juices treated cells. Two independent sets of experiments performed in duplicate were evaluated.

III.3.Result and discussion

Skhour, Ben Guerir and Khouribga yielded the highest amounts of pulp (Table 2). This yields were probably overestimated since it was difficult to differentiate between peel and pulp tissues. Thus, its pulp and juice probably contained significant amounts of peel components that affected pH and the phytochemical profile. The 59.4 and 57.6 % pulp yields obtained from Ben Guerir and red fruit of Khouribga, respectively, were higher and similar compared to yields previously reported by R. A. Chavez-Santoscoy et al. (2009) for *Opuntia* spp. Others authors reported a large variability in pulp yields within the same species ranging from 38 to 62% (Felker et al. 2005). The large differences in yields were related to the prickly pear size, and the amount and thickness of the peels. (Gurrieri et al. 2000) previously documented similar pulp yield for Sicilian cultivars.

The set of prickly pear juices had pH's ranging from 5.27 to 5.95 (Table 2). These values are less acidic than citrus juices (pH 3.35) (Kelebek et al. 2008). As expected, the juices with the lowest pH values had the highest titratable acidities. Ait Baamrane and Doukkala contained the highest acidities followed by red juice of Khouribga and Ras Elain. Skhour and Ben Guerir contained at least more acidity compared to Tamellalet, yellow juice of Khouribga and Alkalaa. The pH (5.64) and acidity values (0.04%) of Tamellalet are within ranges determined by Gurrieri et al. (2000) in prickly pear juices from *Opuntia ficus indica*. According to Felker et al. (2005), the pH and acidity for ripen fruits is between 5.6 and 6.5 and 0.05% and 0.18%, respectively. (Viloria-Matos et al.

2002; Díaz-Medina et al. 2007; Pimienta-Barrios et al. 2008) reported more acidic pH in prickly fruits collected from *Opuntia dillenni* (pH 3.3), *Opuntia boldinghii* (pH 4.9) and *Opuntia joconostle* (pH 3.2).

Table 2: Characterization, pulp yield, acidity and sugar contents of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.

<i>Cultivars</i>	Fruit characteristics	Pulp Yield %	pH	° Brix	Acidity (%)	°Brix/Acidity
<i>SkhourRhamna</i>	Spineless, yellow peel, orange yellow pulp.	62,78	5,56±0,07	11,33±0,29	0,067±0,05	169,10±4,34
<i>Alkalaa</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp	48,34	5,63±0,05	13,05±0,50	0,049±0,06	266,32±34,94
<i>Yellow Khouribgua</i>	Spiny, green peel, green pulp.	52,00	5,95±0,06	13,76±0,52	0,046±0,01	299,13±10,62
<i>Red Khouribgua</i>	Spiny, purple peel, purple-red pulp.	57,57	5,52±0,09	13,42±1,61	0,077±0,02	174,28±6,80
<i>Tamellalet</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp	50,62	5,64±0,27	12,1±1,32	0,046±0,04	263,04±29,07
<i>Doukkala</i>	Spineless, yellow peel, orange yellow pulp.	56,16	5,45±0,16	13,58±0,52	0,081±0,01	167,65±5,31
<i>Ras Eazlain</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp.	54,13	5,61±0,11	11,5±2,78	0,074±0,01	155,40±36,15
<i>Ben Guerir</i>	Spiny, yellow peel, green-yellow pulp.	59,41	5,55±0,09	12,17±0,29	0,067±0,06	181,64±3,59
<i>Ait Baamrane</i>	Spineless, yellow peel, orange yellow pulp.	53,20	5,27±0,08	15,47±0,06	0,098±0,05	157,86±0,87

The sugar content of the prickly pear juices varied from 11.33 to 15.47°Brix (Table 2). These values are within the range reported by Mullen et al. (2007) for 13 commercially available fruit juices and drinks of the United Kingdom. The juice with the highest sugar content corresponded to Ait Baamrane with 15.47°Brix. The Ait Baamrane juice also contained more than 15 °Brix. El Gharras et al. (2006) reported 16.6 °Brix for a juice extracted from the same species as Ait Baamrane. The prickly pear juice with a high sugar content tend to have lower acidity and therefore a high °Brix/acidity ratio (Table 2).

The total phenolics contents of the juice of the nine cultivars of prickly pears varied from 354.37 to 643.66 µg GAE/g of juice (Table 3). The cultivar from Ait Baamran contained the highest amount of total phenols (643.66 µg GAE/g of juice) followed by

Alkalaa cv. (632.11 µg GAE/g of juice). The juice from Khouribga cv. contained the lowest amount. The other cultivars from Skhour Rhamna, Ras Elain, Tamellalet and Ben Guerir contained comparable amounts. The juices of Moroccan origin contained higher phenolic amount than the juices from Mexican prickly pears ranging from 55.4 to 226.3µg GAE/g of juice (Chavez-Santoscoy et al. 2009). But these values are less than those presented by Enza Maria Galati et al. (2003) (746 µg/ml of juice of whole fruits of Sicilian cultivars of prickly pear (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) and Chang et al. (2008) (915µg/g GAE in methanol extracts of fruits of *opuntia dillenii*). The contents of betalains of cultivars (table 3) were similar to those previously reported by El Gharras et al. (2008); Stintzing et al. (2003); Alfredo Cassano et al. (2010). However, there were wide differences in terms of betaxanthins contents. The cultivars: Ras Elain cv., Alkalaa cv. and Ait Baamrane cv. contained the highest amounts (41.69mg/l - 51.33mg/l) followed by Tamellalet cv. and Skhour Rhamna cv. (36 to 37 mg/l) then Ben Guerir cv., Ben Guerir cv. and Doukkala cv. which contained the lowest amounts (< 23 mg/l). The red juice from Khouribga cv. contained (52.04, 15.84 mg/l) of betacyanins and betaxanthins respectively; on the other hand the yellow juices from the same origin contain only betaxanthins (26.68 mg/l).

Table 3:Total phenols, Flavonoids, Flavonols, Betaxanthins and betacyanins pigments antioxidant activity of juices extracted from nine Moroccan prickly pears.

Cultivars	Total phenols µg GA eq./g of juice	Flavonoids µg catechin eq./g DW	Flavonols µg rutin eq./g DW	Betaxanthins mg indicaxantin/ l	Betacyanins mg betanin/l	DPPH EC50 µg/ml of Juice	ABTS mM TE/g DW of Juice
<i>Skhour Rhamna</i>	476,37±5.13	44,56±2.94	23,11±0.62	37,66±4.77	-	91,20±3.63	0.17±0.02
<i>Elkalaa</i>	632,11±5.50	48,42±1.07	14,79±0.76	42,83±3.00	-	65,86±5.20	0.24±0.02
<i>Yellow Khouribga</i>	354,37±5.37	24,67±1.91	18,33±0.99	26,68±2.12	-	135,96±12.50	0.16±0.03
<i>Red Khouribga</i>	358,99±6.10	25,43±1.64	10,7±0.37	15,84±0.08	52,04±0.93	131,82±11.55	0.16±0.03
<i>Tamellalet</i>	467,22±3.79	44,3±1.28	19,04±0.74	36,96±0.34	-	104,71±6.24	0.16±0.02
<i>Doukkala</i>	394,9±7.40	28,35±1.59	19,05±0.67	18,28±1.48	-	112,51±9.83	0.16±0.02
<i>Ras Elain</i>	587,11±4.42	40,26±1.25	19,12±1.26	41,61±2.15	-	75,86±8.16	0.24±0.02
<i>Ben Guerir</i>	524,63±7.27	49,03±3.82	18,81±0.20	22,96±0.24	-	82,86±5.64	0.18±0.02
<i>Ait Baamrane</i>	643,66±3.25	38,76±1.98	32,67±1.93	51,33±4.10	-	52,48±6.17	0.24±0.02

Our results show that the Moroccan juices contained more betaxanthins compared to values found in Mexican prickly pears (*Opuntia* spp.) (Chavez-Santoscoy et al. 2009) and lower content than those found by Butera et al. (2002) from Italian cultivars of prickly pear (84.20mg per kg of juice).

The effective concentrations (EC50) determined by DPPH radical-scavenging activity for juices varied between 52.48 ± 6.16 and 135.96 ± 12.5 µg/ml of juice (Table 3). The obtained values of DPPH were significantly different according to the varieties of cactus pear juices.

The juices from the nine cultivars were submitted to the ABTS radical cation decolourization assay. All juices had ABTS values in the narrow range of 0.16 to 0.24 mmol TE/g DW (Table 3) despite the significant differences in total phenols and betalains. The Moroccan prickly pear juices ABTS values were higher compared to those (4.20 to 5.31 µmol TE/g of edible pulp) of methanolic extracts from prickly pear fruit reported by Butera et al. (2002) and to values (17.4–25.8 mmol TE/L) obtained by Chavez-Santoscoy et al. (2009).

Flavonoid and flavonol contents in the nine cactus pear fruit juices are shown in (Table 3) were significantly different between the studied *Opuntia* juice cvs ($p < 0.05$).

Flavonoids ranged from 24.67 µg catechin/g in yellow juice from Khouribga to 49.03 µg catechin/g in Ben Guerir cv . Flavonol contents ranged from 10.7 µg rutine /g in red juice from cv Khouribga to 32.67 µg rutin /g in cv Ait Baamrane. Only Ben Guerir cv showed significantly higher flavonoids content than Elkalaa cv. Ait Baamrane, Skhour Rhamna, and Ras Ayn cvs have significantly higher flavonols than red juice from Khouribga cv.

For flavonoid content, values were close to the range reported Kuti et al. (2004) for fruits red-skinned (*O. strephacantha*) and less than fruits of the green-skinned (*O. ficus-indica*) and the purple skinned (*O. lindheimeri*), wich reported by same authors.

Our results also show that the studied juices contained at least 10 times less flavonoids compared to values found in Mexican prickly pears juice reported by Chavez-Santoscoy et al. (2009) (95.8 - 374.3 µg quercetin eq./g). Ndhlala et al. (2007) analyzed the flavonoids of ethanol extracts of pulp and peels of prickly pears belonging to *Opuntia megacantha* and found that the pulp contained approximately 10µg/g cathecin. The flavonoid profile has not been reported for the prickly pears analyzed in this study. However it was revealed that the predominant flavonoids in the fruits of *Opuntia cactus* pears consisted of quercetin, kaempferol and isorhamnetin, respectively. Thus, it is important to continue research on this field to evaluate the flavonoid profile. In addition, The flavonoids constitute about one-half of the 8000 or so recognized phenols and are molecules responsible for the colour of fruit and flowers (Cook & Samman 1996). Thus, the flavonol is one of the most commonly consumed flavonoids and has been well studied for its potential health benefits. Quercetin possesses antiproliferate, anticarcinogenic and antioxidant activities (Kandaswami & Middleton 1994).

The antitumor activity of the products was evaluated against P-815 cell line. The results are summarized in figure 2. It is shown in this figure that the cytotoxic effect depends on the provenance of juice.

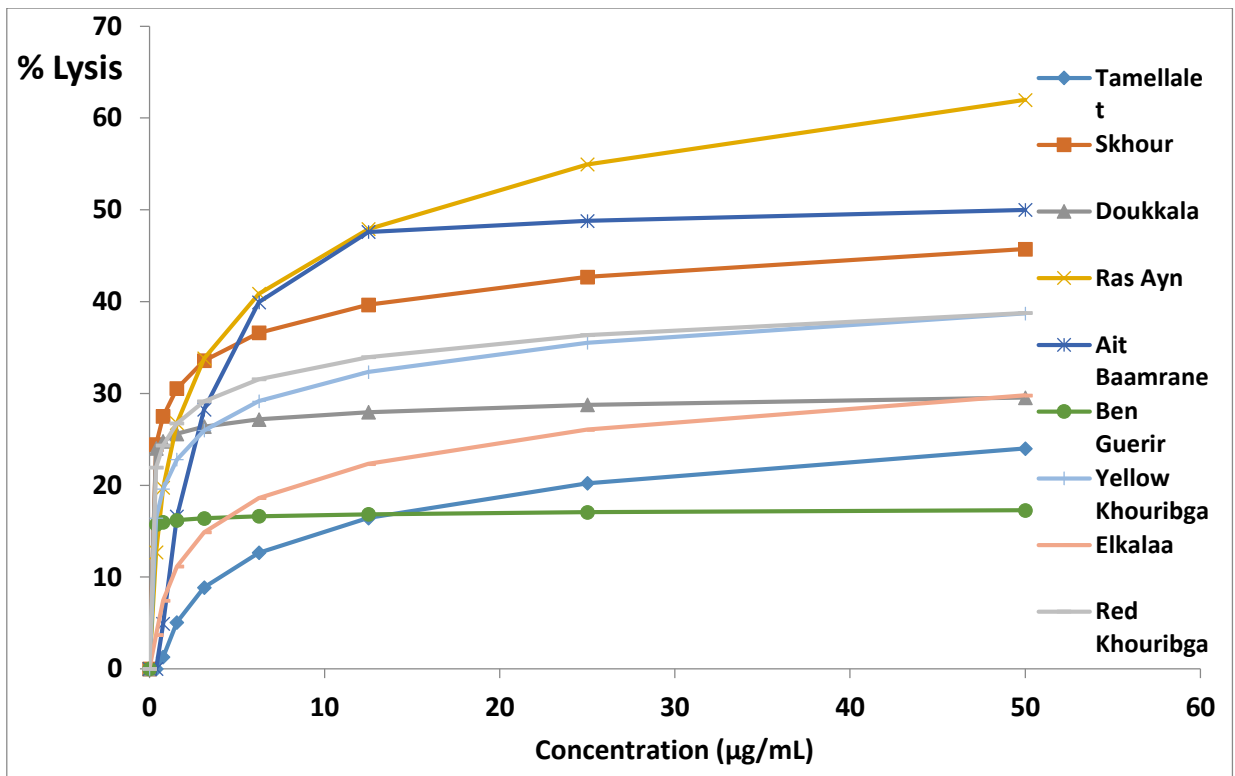


Figure 2: Effect of prickly pear juices on cell viability of four cancer cell line

Overall, the viability of the cancer cells tested was dose-dependent. Furthermore, among the different samples, the juice from Ras Ayn region is the most cytotoxic one and, unlike the other studies juices. Also, Ait Baamrane and Skhour Rhamna juices have an important effect. Interestingly, these cultivars had the highest antioxidant capacity (Table 3). However, comparing the effect of *Opuntia ficus indica* juices on the P815 cell lines, a differential activity can be observed.

Also, it has been reported that the extracts of fruits and stems of cactus exhibit an, anti-tumor activity (Fatma Hassan Abd El-Razek et al. 2012). Furthermore, Chavez-Santoscoy et al. (2009), Reported that the Moradillo juice extracted from Mexican *Opuntia ficus indica* also diminished the growth of normal fibroblasts used as control. The same thing from Rastrero also diminished the growth of prostate cancer cells but did not affect normal fibroblast viability.

Brewer et al. (2005) concluded that Arizona prickly pear cactus effectively inhibited cell growth in several different immortalized and cancer cell cultures in vitro and suppressed tumor growth. The pear extracts significantly suppressed tumor growth in nude mice.

III.4. Conclusion

From the presented data, it appears that *Opuntia ficus-indica*, has been subject to intensive exploitation due to its great compositional diversity. Nowadays, this hidden knowledge needs to be discovered and re-evaluated. Sophisticated analytical approaches and innovative processing technologies will open new avenues to further promote the use of cactus pear stems, fruits, juices and flowers in food, medicine, cosmetic, and pharmaceutical industries.

This research shows the potential of prickly pears as an important source of natural antioxidants and nutraceuticals. Further research is needed in order to find the most bioactive anticancer compounds and if the in vitro results correlate with animal studies.

Acknowledgements

We thank Professor S. Sayadi (Centre of Biotechnology of Sfax) and Professor A. Ziyad (Laboratory of Genius Biological, Faculty of Science and Technology of Beni-Mellal) for their generous assistance and access to their laboratories.

References:

- Abd El-Razek FH, El-Metwally EM, Shehab GM, Hassan AA, Gomaa AM (2012). Effects of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice on oxidative stress in diabetic cataract rats. *Saudi J Health Sci*; 1:23-9
- Acevedo A, Fonseca E, Viguer JM, Contreras F (1985): Use of the peroxidase antiperoxidase technic in cytologic smears in pemphigus vulgaris. *Med Cutan Ibero Lat Am*, 13:237-241. Pub Med Abstract
- Butera D., L. Tesoriere, F. Di Gaudio, A. Bongiorno, M. Allegra, A.M. Pintaudi, R. Kohen & M.A. Livrea (2002): Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. *J Agric Food Chem* 50, 6895–6901
- Cai, Y., Sun, M., & Corke, H. (1998). Colorant properties and stability of Amaranthus betacyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4491–4495.
- Campos, M. G.; Webby, R. F.; Markham, K. R.; Mitchell, K. A.; & Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and

- the contribution of constituent flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3): 742–745.
- Cassano, A.; Conidi, C.; Drioli, E. (2010). Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. *Desalination*, 250
- Chang SF, Hsieh CL, Yen GC (2008). The protective effect of *Opuntia dillenii* Haw fruit against low-density lipoprotein peroxidation and its active compounds. *Food Chem* 106:569–575. doi:10.1016/j.foodchem.2007.06.017.
- Chavez-Santoscoy, R. A.; Gutierrez-Uribe, J. A.; Serna-Saldívar, S. O. (2009). Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and In Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Nine Prickly Pear (*Opuntia spp.*) Juices. *Plant Foods Hum Nutr*, 64: 146–152.
- Cook, N. C., & Samman, S. (1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, 7, 66–76.
- Dehbi, F., Hasib, A., Bouaziz, M., Ouattmane, A., Elbatal, H., Jaouad, A. & Sayadi, S. (2013). Effect of phenolic compounds and betalain pigments on the antioxidant capacity of Moroccan prickly pear juices. *Nature & Technology, Journal B- Agronomic & Biological Sciences*, 09, 02-07
- Díaz Medina EM, Rodríguez Rodríguez EM, Díaz Romero C (2007). Chemical characterization of (*Opuntia dillenii*) and (*Opuntia ficus indica*) fruits. *Food Chem* 103:38–45. doi:10.1016/j.foodchem.2006.06.064
- El-Gharras, H.; Hasib, A. ; Jaouad, A.; El-Bouadili, A. (2006). Chemical and physical characterization of three cultivars of Moroccan yellow prickly pears (*Opuntia ficus-indica*) at three stages of maturity. *Cienc. Technol. Aliment.* 5(2): 93-99.
- El-Gharras, H.; Hasib, A.; Jaouad, A.; El-bouadili A & Benoît Schoefs. (2008). Stability of vacuolar betaxanthin pigments in juices from Moroccan yellow *Opuntia ficus indica* fruits. *International Journal of Food Science and Technology*. 43, 351–356.
- El-Kossori, R.L, C. Villaume, E. El-Boustani, Y. Sauvaire and L. Méjean (1998). Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant Foods Hum. Nutr.*, 52: 263-270.

Fatma Hassan Abd El-Razek and Amal A. Hassan (2001): Nutritional Value and Hypoglycemic Effect of Prickly Cactus Pear (*Opuntia Ficus-Indica*) Fruit Juice in Alloxan-Induced Diabetic Rats: *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(10): 356-377.

Felker P, Rodriguez SC, Casoliba RM, Filippinid R, Medina D, Zapata R (2005). Comparison of *Opuntia ficus indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. *J Arid Environ* 60:405–422. doi:10.1016/j.jaridenv.2004.06.003

Feugang, J.M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F.C., Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia spp.*) cladodes and fruits. *Front. Biosci.* 11, 2574–2589.

Galati EM, Mondello MR, Giuffrida D, Dugo G, Miceli N, Pergolizzi S, Taviano MF (2003) Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *J Agric Food Chem* 51:4903–4908. doi:10.1021/jf030123d

Galati EM, Mondello MR, Lauriano ER, Traviano MF, Galluzzo M, Miceli N (2005): *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller fruit juice protects liver from carbon tetrachloride induced injury. *Phytother Res*, 19:796-800.

Gurbachan S. & P. Felker (1998): Cactus: new world foods. *Indian Horticulture* 43, 29–31

Gurrieri S, Miceli L, Lanza CM, Tomaselli F, Bonomo RP, Rizzarelli E (2000). Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *J Agric Food Chem* 48:5424–5431. doi:10.1021/jf9907844

Joubert, E. (1993). Processing of the fruit of five prickly pear cultivars grown in South Africa. *International Journal of Food Science and Technology*, 28, 377–387.

Kandaswami, C., & Middleton Jr., E. (1994). Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. *Advanced Experimental Biology & Medicine*, 366, 351–376.

- Kelebek H, Canbas A, Selli S (2008). Determination of phenolics and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L) Osbeck) grown in Turkey. *Food Chem* 107:1710–1716. doi:10.1016/j.foodchem.2007.10.004
- Kim H, Hall P, Smith M, Kirk M, Prasain JK, Barnes S, Grubbs C (2004): Chemoprevention by grape seed extract and genistein in carcinogen- induced mammary cancer in rats is diet dependent. Supplement: International Research Conference on Food, Nutrition and Cancer. *J Nutr*, 134:3445S-3452S.
- Kim, D. M., Smith, N. L., & Lee, C. Y. (1993). Apple cultivars variations in response to heat treatment and minimal processing. *Journal of Food Science*, 58, 1111–1115.
- Kuti JO (2004): Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chem*, 85:527-533.
- Markus R. Moßhammer, Florian C. Stintzing, and Reinhold Carle (2006). Cactus Pear Fruits (*Opuntia spp.*): A Review of Processing Technologies and Current Uses. J. PACD M. R. Moßhammer 2006
- Miller, N. J.; Rice Evans, C. A.(1996). Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox Rep.* 2, 161-171.
- Mosmann T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay. *J Immunol Methods* 65: 55-63.
- Mounir Tilaoui, Hassan Ait Mouse, Abdeslam Jaafari; Rachida Aboufatima, Abderrahman Chait, Abdelmajid Zyad (2011).Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from aerial parts of a medicinal herb *Artemisia herba-alba*. *Rev. bras. Farmacogn* 4, 781-785
- Mullen W, Marks SC, Crozier A (2007). Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks. *J Agric Food Chem* 55:3148–3157. doi:10.1021/jf062970x
- Ndhlala AR, Kasiyamhuru A, Mupure C, Chitindingu K, Benhura M, Muchuweti M (2007). Phenolic composition of *Flacourtia indica*, *Opuntia megacantha* and *Sclerocarya birrea*. *Food Chem.* 103:82–87. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.06.066.

- Pellegrini, N.; Re, R.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1999) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol*, 299, 379-389.
- Pimienta-Barrios E, Méndez-Morán L, Ramírez-Hernández BC, García de Alba-García JE, Domínguez-Arias RM (2008). Effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) fruit consumption on glucose and seric lipids. *Agrociencia* 42:645–653
- Saenz, C. (2000). Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments*, 46, 209–225, doi: 10.1006/jare.2000.0676.
- Sepúlveda, E., & Saenz, C. (1990). Chemical and physical characteristics of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*). *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 30, 551–555.
- Stintzing, F.C., Schieber, A., and R. Carle (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology* 216: 303-311.
- Tateo, F. (1978). *Analisi dei Prodotti Alimentari*; Chiriotti Editori: Pinerolo (TO), Italy.
- Tesoriere L, Butera D, Pintaudi M, Allegra M, Livrea MA (2004): Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with Vit. C. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 80:391-395
- Viloria-Matos A, Corbelli-Moreno D, Moreno-Alvarez MJ, Belén DR (2002). Stability in betalains from tuna pulp (*Opuntia boldinghii* Br. Et R.) submitted to a lyophilization proces. *Rev Fac Agron* 19:324–331 LU
- Wolfe, K.; Wu, X.; & Liu, R. H.(2003). Antioxidant Activity of Apple Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 609–614.
- Xu Y, Ho CT, Amin SG, Han C, Chung FL (1992): Inhibition of tobaccospecific nitrosamine-induced lung tumorigenesis in A/J mice by green tea and its major polyphenol as antioxidants. *Cancer Res*, 52:3875-3879.
- Yermakov, A.I., Arasimov, V.V., Yarosh, N.P., (1987): *Methods of biochemical analysis of plants*. Leningrad: Agropromizdat, pp. 122-142 (in Russian).

Zaki N., Hakmaoui A., Ouatmane A., Hasib A., Fernández-Trujillo J. P. (2013). Bioactive Components and Antioxidant Activity of Moroccan Paprika (*Capsicum annuum* L.) at Different Period of Harvesting and Processing. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* ; 3 (8): 1-8

Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64:555–559.

Zou DM, Brewer M, Garcia F, Feugang JM, Wang J, Zang R, Liu H, Zou C (2005): Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal*, 4:25-36.

III.5. Étude de la corrélation entre la capacité antioxydante des différents jus d'*Opuntia ficus indica* et leurs teneurs en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et bétaxanthins

- Extrait de la Publication 3:

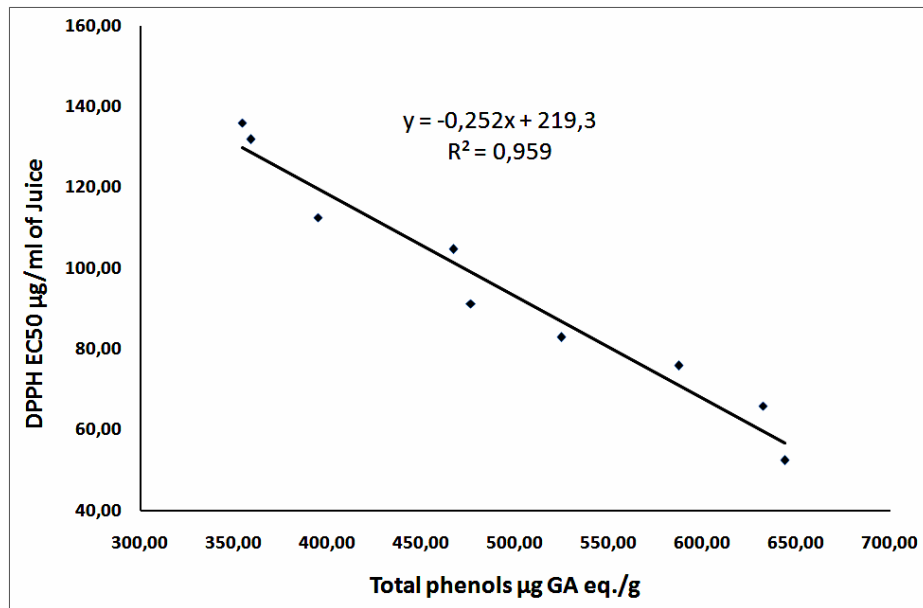
Effect of phenolic compounds and betalain pigments on the antioxidant capacity of Moroccan prickly pear juices.

Fatima Dehbi^a, Aziz Hasib^a, Mohamed Bouaziz^b, Aziz Ouattmane^a, Hicham Elbatal^a, Abderrahim Jaouad^a, Sami Sayadi^b.

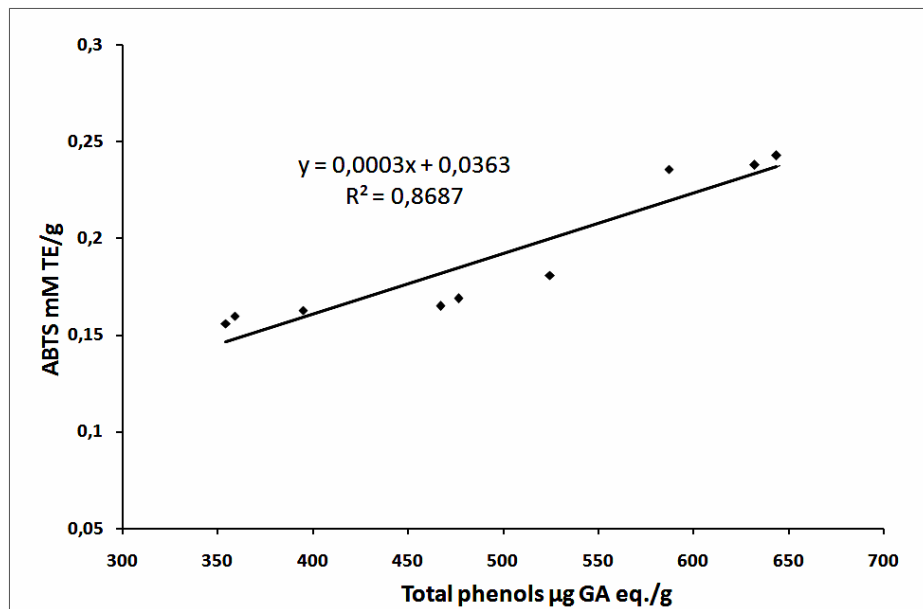
« *Nature & Technology* » *Journal. B- Agronomic & Biological Sciences*, Issue n° 09/June 2013. Pages 02 to 07

Des régressions linéaires ont été établies à partir des données recueillies afin de savoir les composés bioactifs contribuant à l'activité antioxydante. Les résultats révèlent que les composés phénoliques totaux sont fortement corrélés à l'activité antioxydante exercée sur le radical DPPH et ABTS (figures a, b, c et d).

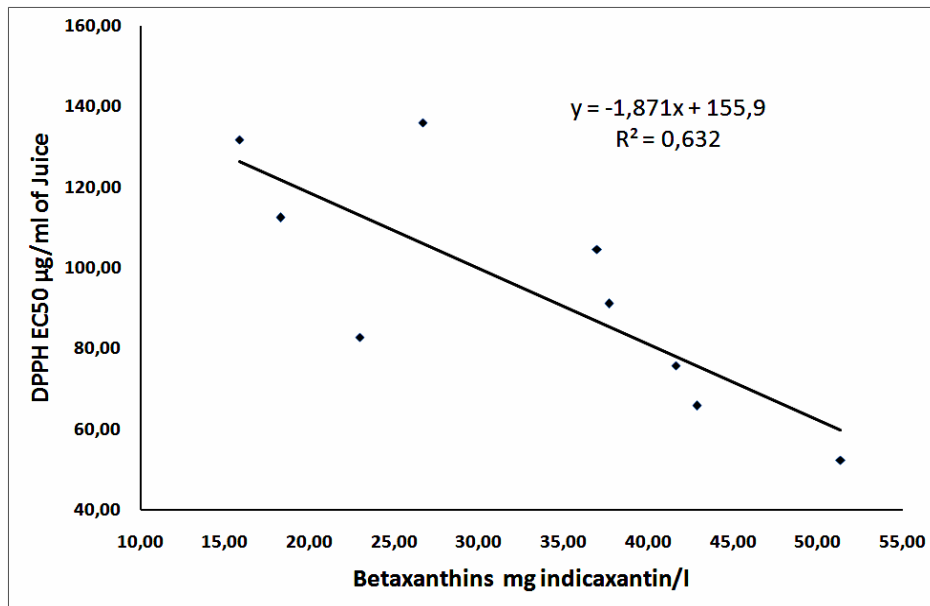
Le coefficient de corrélation pour le test de DPPH est de $R^2 = 0,959$. Pour le test d'ABTS, le coefficient de corrélation est $R^2=0,869$. En outre, les opuntias sont une bonne source de composés phénoliques, bien connus pour leurs effets antioxydants[243]. Selon Chen et Ho [244], les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. La forte activité antioxydante des extraits serait donc liée à leur forte teneur en phénols totaux. Lee et al. et Federica Pellati [245,246], ont également signalé une bonne corrélation entre la teneur en polyphénols et l'activité anti-radicalaire avec des coefficients de corrélation de 0,86 et 0,99 respectivement. Selon María Teresa Sumaya-Martínez et al. [247], une bonne corrélation existe entre l'activité antioxydante et les phénols totaux et l'acide ascorbique pour les fruits de cactus rouge.



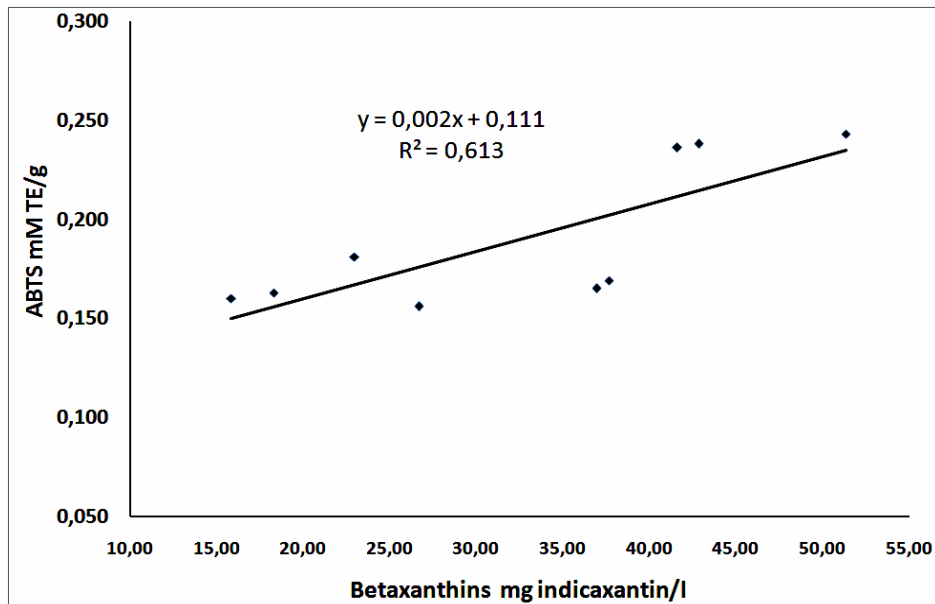
(a)



(b)



(c)



(d)

Figures 14 : a) Corrélation entre les polyphénols et l'activité antioxydante (DPPH), b) corrélation entre les polyphénols et l'activité antioxydante (ABTS), c) corrélation entre les bétaxanthins et l'activité antioxydante (DPPH), d) corrélation entre les bétaxanthins et l'activité antioxydante (ABTS).

Les bétaxhantines des différents jus a été également corrélée avec la capacité antioxydante avec des coefficients de corrélation de l'ordre de $R^2 = 0,632$ et $R^2 = 0,613$ respectivement.

Comparativement aux bétaxhantines, on note que les composés phénoliques contribuent en grande partie à l'activité antioxydante mesurés aussi bien par le DPPH que par l'ABTS. Nos résultats sont en accord avec les travaux de José A. [248] qui a enregistré une pauvre corrélation entre les pigments bétalaines et les caroténoïdes avec l'activité antioxydante dans les extraits de trois variétés d'opuntia originaires de l'Espagne.

R. A.Chavez-Santoscoy et al [235] ont rapporté que parmi les antioxydants phytochimiques de *l'opuntia ficus indica* L., les polyphénols méritent une attention particulière en raison de leurs propriétés de piégeage des radicaux libres. Plusieurs chercheurs ont rapporté la relation entre la teneur en polyphénol et l'activité antioxydante [236,237].

Cependant, le contenu en flavonoïdes totaux et en flavonols totaux ne sont pas corrélés avec le pouvoir antioxydant des jus de la figue de barbarie étudiés. Au contraire, Kuti et al et José A et al [2,248] ont rapporté une corrélation positive entre le contenu des flavonoïdes et des composés phénoliques avec les activités antioxydantes observées chez différents fruits d'opuntia.

Pour conclure, une bonne corrélation a été établie entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux, prouvant que l'activité observée est due en grande partie aux polyphénols totaux. Les pigments bétaxanthins et l'activité antioxydante mesurée par les deux tests sont positivement corrélés, mais de manière moins significative. Cependant, une telle corrélation n'a pas été établie entre l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïdes et en flavonols totaux. Cette plante pourrait être considérée comme une excellente source d'antioxydants naturels pour des fins médicinales.

Chapitre IV:

**Optimisation des facteurs influençant la
stabilité des pigments betaxanthin du jus de
figue de barbarie par la méthodologie des
plans d'expériences**

Chapitre IV: Optimisation des facteurs influençant la stabilité des pigments betaxanthin du jus de figue de barbarie par la méthodologie des plans d'expériences

- Introduction :

Afin d'évaluer l'influence des conditions expérimentales sur la stabilité de pigments Betaxanthin de jus de figues de barbarie, nous avons fait appel à la méthodologie de la recherche expérimentale.

Dans une première étape, nous avons fait une étude de criblage des facteurs susceptibles d'influencer la stabilité des pigments (§ Partie I, Paragraphe I.4.7), à savoir, le pH, l'acide citrique, l'acide ascorbique, la lumière, le temps et la température pour déterminer le poids de ces facteurs sur la réponse choisie comme étant le taux de rétention de pigment.

Dans un deuxième temps, les trois facteurs les plus influents, à savoir, la température, le temps et le pH ont été optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type composite centré (PPC).

Les données obtenues à partir du Plan PPC (taux de rétention de pigment) ont été analysées par le logiciel des plans d'expériences statistiques (Design Expert). La méthodologie des surfaces de réponses nous a permis de modéliser les réponses étudiées sous la forme d'une équation polynomiale du second degré.

- **Publication 4:**

**Optimization of Variables Influencing The Stability of
Betaxanthin Pigments From Yellow Prickly Pears Juice By
Experimental Design**

Fatima Dehbi, Aziz Hasib, Hicham El Batal, Aziz Ouatmane, Abderrahim Jaouad

*Sultan Moulay Slimane University, Faculty of Sciences and Technologies, Laboratory of Environment and
Valorization of Agro-resources, B.P. 523, Beni-Mellal, MOROCCO.*

International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering

Volume 4, Issue 2, February 2014, 808-815

Abstract— The crude pigments obtained from yellow prickly pears juice, were evaluated for their stability at series of pH: from 3 to 6.5 in the presence of different ascorbic acid or citric acid concentrations as stabilizers. The effect of exposure to light and dark between temperatures values: 70 and 100°C and varied heating time from 5 to 60 min were also estimated. The stability of betaxanthins pigments was measured on the basis of their UV-visible absorption spectrum. The six variables: pH, ascorbic acid, citric acid, light, heating time and temperature were selected and then, a screening of them was carried out with a design optimal experimental to determine the influential factors. Optimization was conducted with three factors: temperature, length of heating time and pH. They were modelled with a central composite experimental design. Then, the model was validated by statistical test and the optimum has been found and checked by three experiments. The optimal conditions that maximized the retention of betaxanthins pigments were: temperature of 76°C, heating time of 16.20 min and pH of 5.76. At these conditions, the predicted rate of retention of pigment was 79%.

Keywords— Prickly pears, pigments, Optimization, Response surface methodology (RSM).

IV.1.Introduction

Cactus prickly pears “*Opuntia ficus indica* L.” can be considered as a plant of the future. It is a promising plant, widely distributed in Morocco and grows in many other countries such as Mexico, United States, South Africa, Australia, and Mediterranean basin countries. It is one of the most suitable plants to cultivate in arid and semiarid regions around the world [1,2]. The plant is grown as fruit, vegetable, forage, and fodder production [3,4]. It supplies two edible parts, the fleshy stem (cladode) and highly attractive and nutritious fruit.

The pulp exhibits a high pH value (5.3 to 7.1), low acidity (0.01% to 0.18% as citric acid equivalents), and total soluble solids content ranging from 10.7 to 17°Brix, mainly due to reducing sugars [3, 5-8]. These characteristics make the pulp a very good medium for microbial spoilage [9] but, on the other hand, very suitable to be added to low-acid foods. Sugar, protein, dietary fibres, and ash contents are similar to those of other fruits [10]. In general, pulp is rich in nutraceuticals and functional properties [2,6,10,11].

Moreover, the fruit contents of pectin and mucilaginous components influence the pleasant flavour of pulp and could serve as thickening agents by forming viscous colloids [7,10].

This pulp has an attractive colour that varies from a soft green, greenish-white, canary-yellow, orangeyellow, lemon-yellow, red, and cherry-red to purple hues [5,12]. These colorants maintain their appearance over a wide pH range (from 4 to 7), which makes them ideal pigments for colouring many foods [9,13].

These attractive colours are due to the betalains comprising the red-violet betacyanins and the yelloworange betaxanthins [14,15].

The use of prickly pears as a source of betalains may be interesting since the plants of the *Opuntia* genus need minimal requirements from soil and water. In this way, they may be a great alternative to agricultural economy in arid and semiarid regions [16].

Betalains are natural pigments that are found in natural form in most families belonging to the Centrospermae order that includes the cactaceae family in which the *Opuntia* genus is found. The chemical structure of these pigments is derived from the

betalamic acid and, depending on the united components in this structure, the yellow betaxanthins and the red-violet betacyanins will be present. The most-studied betalains are found in red beets (*Beta vulgaris*) which main betacyanins are betanin and isobetanin. Betalains stability is affected by temperature, pH, oxygen, light, and aqueous activity [17].

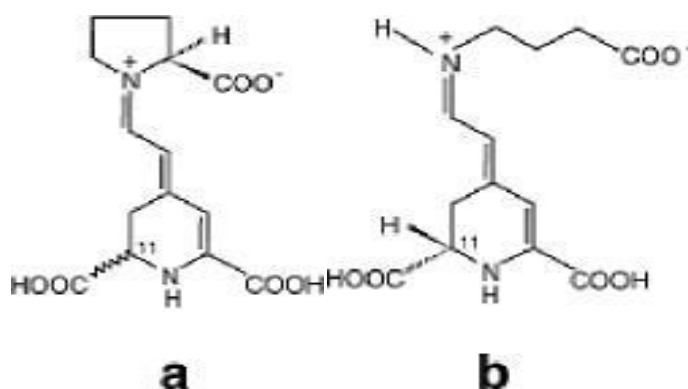


Figure 1: Chemical structures of proline-betaxanthin/isoproline-betaxanthin (a), γ -aminobutyric acid-betaxanthin (b)

During food processing and storage, several studies noted that temperature is the most important factor on betalain stability.

Concerning the pH factor, betalains is relatively stable over the broad pH range from 3 to 7 [18], which allow their application to low acidity foods. Below pH 3.5, the absorption maximum shifts toward lower wavelengths, and above pH 7 the change is toward upper ones; out of the pH range 3.5–7.0 the intensity of the visible spectra decreases. Optimal pH range for maximum betanin stability is 5–6 [16,19].

Betalain stability was also reported to be impaired by light exposure [20,21]. Authors showed an inverse relationship between betalain stability and light intensity [21]. Some food antioxidants, especially ascorbic and isoascorbic acids have been described to enhance betalain stability [22, 23].

In methodology, we opted for response surface methodology (RSM) as it is an affective statistical technique for optimizing complex processes. The main advantage of RSM is the reduced number of experimental trials needed to evaluate multiple parameters and their interactions. Therefore, it is less laborious and time-consuming

than other approaches required to optimize a process [24]. It is widely used in optimizing the extraction process variables, such as polysaccharides, anthocyanins, vitamin E, phenolic compounds and protein from varied materials [25-27]. Box–Behnken design (BBD), one of RSM, only has three levels, and needs fewer experiments. It's more efficient and easier to arrange and interpret experiments in comparison with others and widely used by many researchers [28,29].

In this study, we propose a screening design that can be used for the estimation of stability of pigment from Moroccan *Opuntia* fruits juice.

IV.2.Materials and Methods

IV.2.1.Sample measurements

Opuntia ficus indica fruits grown in Morocco were harvested and stored at -20°C. The fruits were thawed prior to manually squeezing. The obtained juice of pH 5.8 was centrifuged (4000 x g, 30min at 4°C) and the supernatant juice was stored at -20°C before being used.

The juice obtained was subjected to various treatments including thermal treatment, pH, stabilizing additives and light or dark exposure.

pH treatment: samples were subjected to pH adjustment using 1M HCl or 2% NaOH. Each set of samples was adjusted to 3 and 6.5; respectively. These samples were added with different percentages of stabilizing.

Ascorbic acid (Asc Ac) or citric acid (Cit Ac) was added into the juice with concentration of (0%; 0.1%, and 1%) (V/V). The juice incorporated with Ascorbic or citric acids were further treated at different temperatures.

Heat treatment: samples obtained from section 2 were treated at two different temperatures; respectively 70 and 100°C during 5 and 60min; each set of the sample treatment was treated in dark or with light exposure.

Pigment was extracted from the homogenate with methanol (1:5) and the supernatant passed through a 0.45µm nylon filter.

IV.2.2. Spectrophotometer analysis:

All determinations of total betaxanthins contents were performed on an UV/Vis spectrometer (UV-1650PC Shimadzu, JAPON) equipped with quartz cuvette of 1cm. The pigments were extracted using methanol. The betalain content was expressed as mg/l and calculated according to literature equation (1) [48].

$$Bx \text{ ([mg/L])} = [(A(DF)(MW)Vd / \epsilon L)](1)$$

Where A is the absorption value at 482 nm betaxanthins (figure 2), DF is the dilution factor, Vd is the juice solution volume (mL), and L is the path-length (1cm) of the quartz cuvette.

The molecular weight (MW) and molar extinction coefficient (ϵ) of betanin [MW = 550 g/mol; $\epsilon = 48,000 \text{ L}/(\text{mol cm})$ in H₂O] were applied in order to quantify the betaxanthins (Bx).

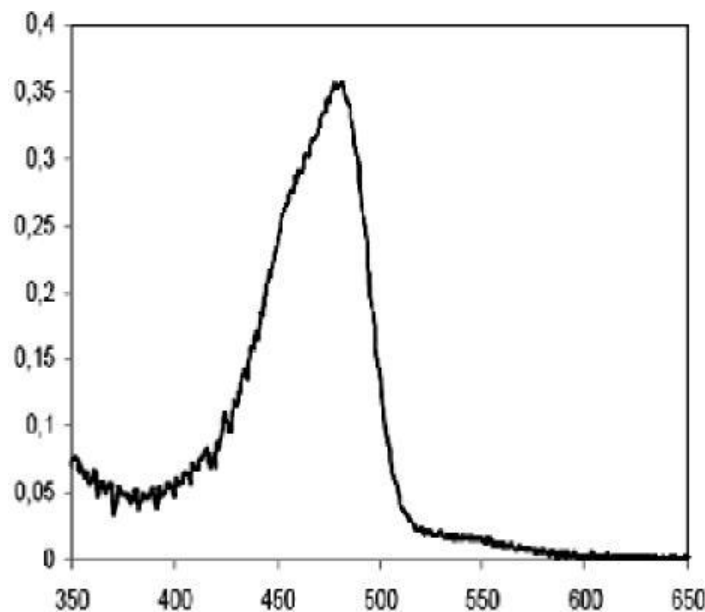


Figure 2: UV-Visible absorbance spectrum of the methanolic extract of the yellow cactus pear juice

IV.2.3. Statistical analysis

NEMROD software (Mathieu D.Nony J; and Phan Tanluu R.; New Efficient Methodology for research using optimal Design; Windows version; LPRAT; Marseille France) has been used in this works.

IV.3.Results and Discussion

IV.3.1.Screening design

This step is done after the exploratory research. We are quickly picks the factors potentially influential in the chosen experimental field. Because of the belief that an increasing number of factors increase the number of experiments exponentially, a high number of factors are often reduced to a number that seldom exceed three or four. This reduction is artificial and relies only on laboratory practices.

TABLE 1
FACTORS AND EXPERIMENTAL DOMAIN

	Factor	Numbers Levels	Levels
U1	Temperature	2	70 100
U2	Time	2	5 60
U3	Light	2	0 1
U4	pH	2	3 6.5
U5	asc ac	2	0.1 1
U6	cit ac	2	0.1 1

This design was used to screen six factors supposed to have an influence on the stability of pigments obtained from *Opuntia ficus indica* juice (Table 1). The response studied is the rate of retention of pigment. The factors are giving the datasheet of the experiments to run (Table 2).

In a screening study, the effects are supposed to be additive; this implies that the relationship between the experimental responses and the studied variables is a first-order polynomial model with values of $X_i = \pm 1$ (equation 2):

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_4 X_4 + b_5 X_5 + b_6 X_6 \quad (2)$$

From the experimental data, the estimations of the bi effects can be calculated (Table 3). These values can then be represented with various diagrams such as a bar chart (Figure 3).

These study clearly four influent key factors: The temperature, heating time and pH. The light, citric and ascorbic acid stabilizing are without any significant effect on the response in the chosen experimental field.

TABLE 3

CALCULATION OF THE ESTIMATION OF BI EFFECTS

Name	Coefficient
b0	56.665
b1	-18.217
b2	-19.655
b3	2.578
b4	12.027
b5	-0.113
b6	-4.025

TABLE 2

EXPERIMENTAL DATASHEET

N° Experience	Rand	Temperature (°C)	Time (min)	Light	pH	Asc ac %	Cit ac %	Response Y1 %
1	7	100	5	0	6.5	0.1	1	62.71
2	1	100	60	0	3	1	0.1	7.17
3	8	100	60	1	3	0.1	1	6.36
4	2	70	60	1	6.5	0.1	0.1	73.04
5	4	100	5	1	6.5	1	0.1	77.55
6	5	70	60	0	6.5	1	1	61.47
7	6	70	5	1	3	1	1	80.02
8	3	70	5	0	3	0.1	0.1	85.00

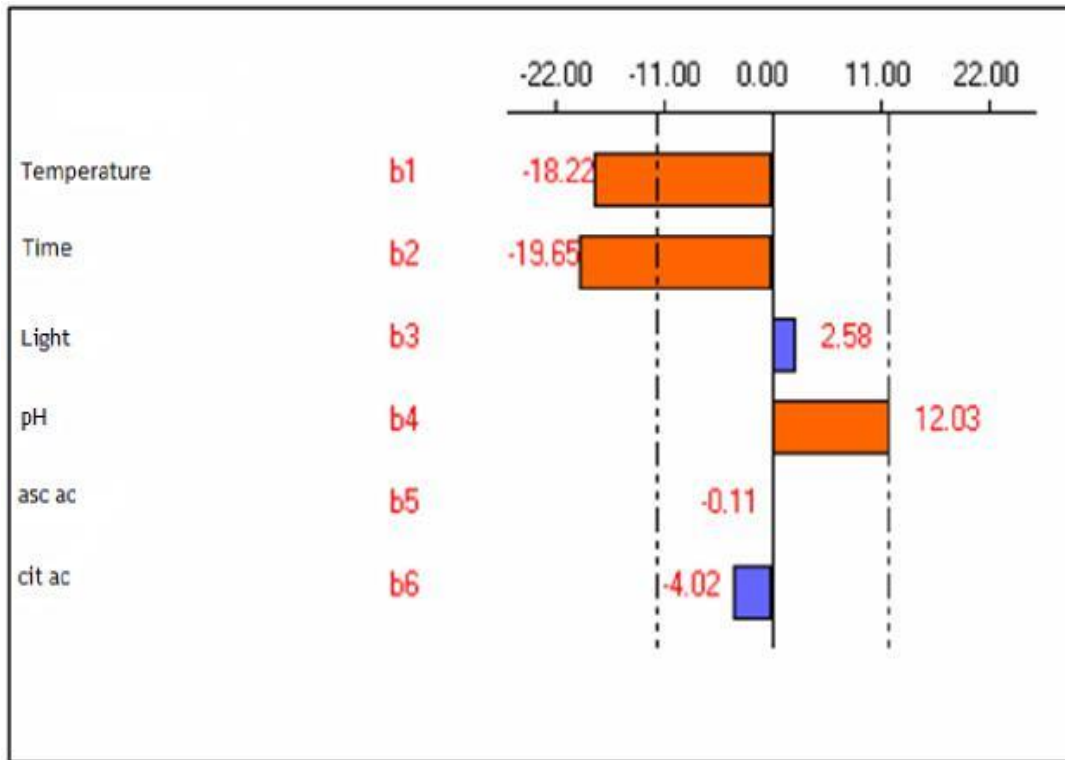


Figure 3: Bar chart of the factor screening results

IV.3.2. Optimization

IV.3.2.1. Predicted model and statistical analysis

Table 3 shows the process variables and experimental data. The results of the analysis of variance, goodness-of-fit and the adequacy of the models are summarized. The percentage of rate of retention ranged from 26.48 % to 79.00%. The maximum value was found at the temperature 70°C, length of heating time 32.5 min and pH 4.75. The application of RSM offers, based on parameter estimates, an empirical relationship between the response variable (rate of retention of betalain pigment) and the test variables under consideration. By applying multiple regression analysis on the experimental data, the response variable and the test variables are related by the following second-order polynomial equation (3):

$$Y = 54.41 - 11.35X_1 - 8.82X_2 + 6.54X_3 - 1.11X_1X_2 + 2.30X_1X_3 + 1.45X_2X_3 + 1.38X_1X_1 + 0.99X_2X_2 + 0.52X_3X_3 \quad (3)$$

Where X_1 , X_2 and X_3 were the coded values of the test variables: The temperature (°C), heating time (min) and pH, respectively.

The statistical significance of regression equation was checked by F-test, and the analysis of variance (ANOVA) for response surface quadratic polynomial model was done by software Nemrodw.

The ANOVA of quadratic regression model demonstrated that the model was highly significant. And the Fisher's F-test had a very high model F-value (201.90) and a very low P-value ($P < 0.0001$). The value of R^2_{Adj} (0.9896) for Eq. (3) is reasonably close to 1, and indicates a high degree of correlation between the observed and predicted values.

A very low value of coefficient of the variation (C.V.) (2.47%) clearly indicated a very high degree of precision and a good deal of reliability of the experimental values. The lack-of-fit measures the failure of the model to represent the data in the experimental domain at points which are not included in the regression.

The F-value (3.99) and P-value (0.0774) of lack-of-fit implied the lack-of-fit was not significant relative to the pure error. It indicates that the model equation is adequate for predicting the rate of retention of the pigment under any combination of values of the variables. The lack-of-fit measures the failure of the model to represent the data in the experimental domain at points which are not included in the regression. The coefficient estimates of model equation, along with the corresponding P-values, were presented in Table 3. The P-values are used as a tool to check the significance of each coefficient, which also indicate the interaction strength between each independent variable. Smaller the P-value is, more significant the corresponding coefficient is [30]. When value of "probability $> F$ " is less than 0.05. It can be seen from this table that the linear coefficients (X_1 , X_2 , X_3), a quadratic term coefficient (X_1^2 , X_2^2) and cross product coefficients (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3) were significant, with very small P values ($P < 0.01$). The other term (X_3^2) is not significant ($P > 0.05$).

IV.3.2.2. Response surface plot

The 3D response surfaces are the graphical representations of regression equation. They provide a method to visualize the relationship between responses and experimental levels of each variable and the type of interactions between two test variables.

In the present study, the effects of the three factors as well as their interactive effects on the rate of retention are shown in Figures.

IV.3.2.3. Effect of temperature and the pH:

Figure 4 denotes the three dimensional surfaces plots of effect of temperature (X_1) and the pH (X_3) on response. As can be seen, enhancing the temperature values (X_1) from 70 to 100°C could decrease the Rate of retention of the pigment according to the results previously observed by [31, 38]. Also, this decrease is more significant on the Rate of retention of the pigment when the pH value (X_3) is minimal. In the same way, the increase in the pH from 3 to 6.5 increases the Rate of retention of the pigment significantly when temperature (X_1) is minimal.

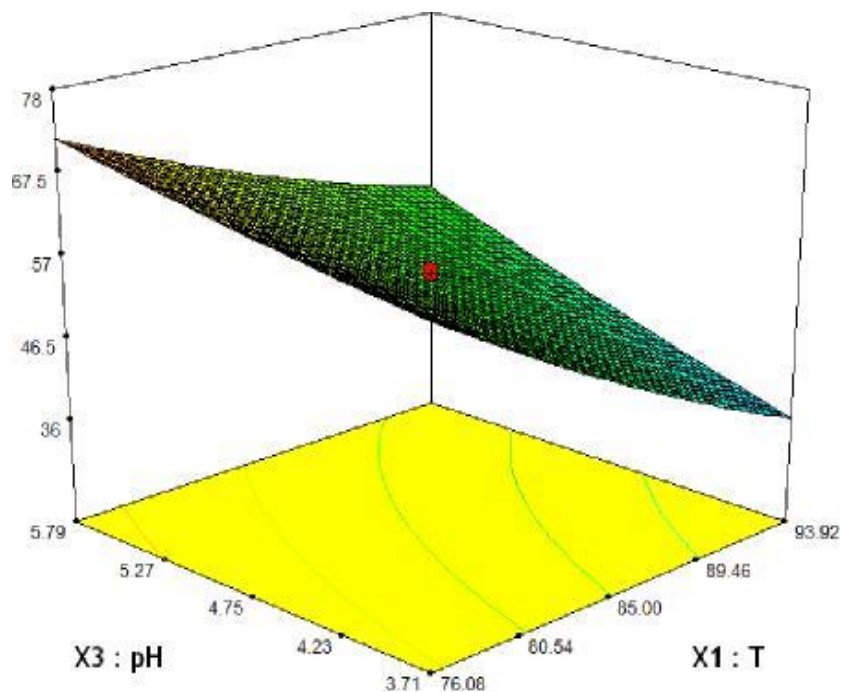


Figure 4: Response surface plots and showing the effect of temperature T (X_1) and the pH (X_3) on the Rate of retention of the pigment.

According to [32] anaerobic conditions favor betanin stability at lower pH (4.0-5.0). The same conclusion is drawn by [33]. who says that on the basis of an absorptivity of 1.00 at the respective λ_{max} -values, cactus pear juice showed betaxanthin contents of 5.6 mg/L (pH 3), 5.8 mg/L (pH 5), and 5.7 mg/L (pH 7), but betacyanin contents in purple pitaya juice amounted to 7.5 mg/L (pH 3), 8.0 mg/L (pH 5), and 7.5 mg/L (pH 7). For the purified fractions from yellow–orange cactus pear, betaxanthin contents of 5.4 mg/L (pH 3), 5.8 mg/L (pH 5), and 5.4 mg/L (pH 7) respectively. This shows that

betalain contents only slightly difference over the pH range from 3 to 7 both in juices and in pigment solutions, successively.

In some studies the effect of the pH also studied but with the presence of one stabilizing such as ascorbic, isoascorbic, and citric acid [34]. This study shows that samples heated at pH 6 exhibited considerably higher betaxanthin retentions directly after heating contrary to juice at pH 4.

This result is concordant with previous findings [16,19] providing evidence of maximum betalain stability at pH values close to the natural pH values of the respective betalain-containing plant tissue.

According to the same study and interestingly, betaxanthin regeneration was found in cactus pear juices heated at two different pH 4 and 6; whereas, recondensation was about four times higher at pH 6. The outcomes for betaxanthins agree with earlier observations for betacyanins stating enhanced regeneration after thermal treatment at pH 6 as compared to pH 4 [35]. Moreover [36] observed a stronger betalain loss upon heating at lower pH-values of 4.0 and 3.2.

Temperature is the most important factor on betalain stability during food processing. Some studies reported increasing betalain degradation rates resulting from increasing temperatures because during heat processing, betaxanthin may be degraded by isomerisation, decarboxylation or cleavage resulting in a gradual reduction of yellow color. Thermal betaxanthin degradation in indicaxanthin solutions as well as in red beet and prickly pear juices was reported to follow firstorder reaction kinetics [37, 38].

Like the Moroccan juice of *Opuntia ficus-indica*, Montefiori D. [39] reported that by combination of the effect of the pH and the temperature, the stability of the Italian pigments of cultivars of *Opuntia ficus-indica* was better with the pH low for treatments of 60 and 70°C.

Generally the degradation rates were found to depend on both temperature and pigment concentration [40]. As confirmed more recently by [36,41, 42] color degradation was higher at elevated temperatures and slower for higher concentrations, respectively

IV.3.2.4. Effect of time and the pH:

Figure 5 shows the effect of length of heating time (X_2) and the pH (X_3) on the Rate of retention of the pigment. It was observed that Rate of retention of the pigment in yellow-colored juices from *Opuntia ficusindica*. increased with the decrease in the length of heating time (X_2) from 5 to 60min. This increase is also more significant on the Rate of retention of the pigment when the pH (X_3) is minimal. Similarly, the increase in the pH from 3 to 6.5 increases the Rate of retention of the pigment significantly when length of heating time (X_2) is minimal.

The same remarks are observed by Hasib A. et al. [37] in another study on cactus-pear juice which noted that in addition to the temperature of treatment and the duration of incubation, the pH largely influences the stability of the betaxanthins. Really, according to the value of the pH, various rates of retention were obtained with an optimal stability with pH 5. The results obtained are comparable with those obtained for betaxanthins extracted from fruit juice of various origins.

Coskuner Y. et al. [43] reported that the optimal retention was obtained with pH 5, whereas [44] quoted that the optimal pH is 5,5.

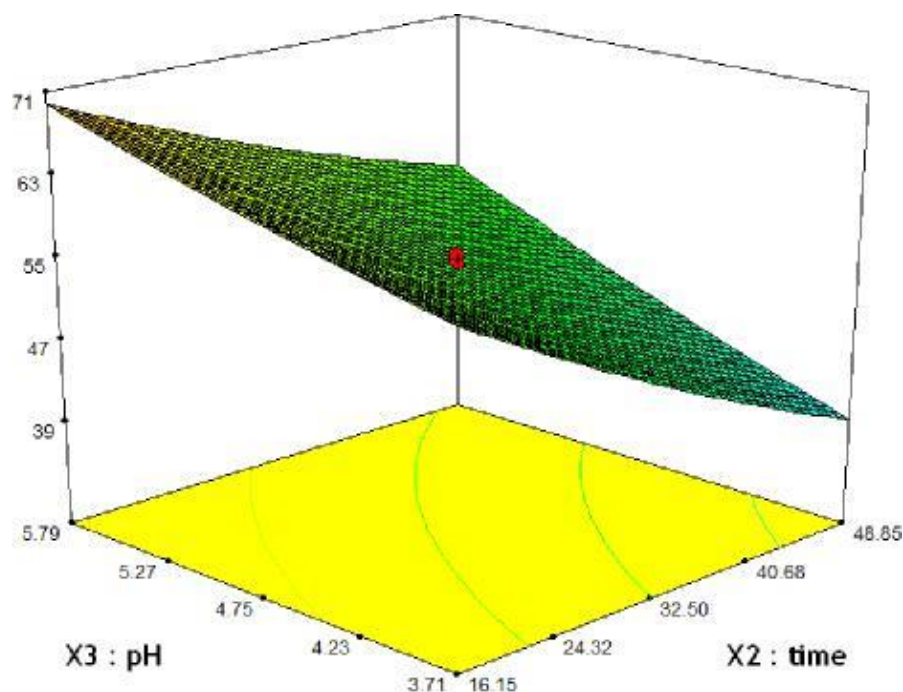


Figure 5: Response surface plots and showing the effect of length of heating time (X_2) and the pH (X_3) on the Rate of retention of the pigment

IV.3.2.5. Effect of temperature and time of incubation:

Figure 6 shows the interaction between temperature and time. From the plot it can be seen that when temperature ($^{\circ}\text{C}$) was increased from 70°C to 100°C the Rate of retention decreased in a linear manner. In addition, the length of heating time also demonstrated a linear decrease for stability of the betaxanthin pigment. This effect, according to [37,45] who also admits that the pace of the absorption spectra was not deteriorated by the heat treatment.

In addition, they note a fall of the intensity of absorption to 482 nm as the temperature of treatment increases. This is observed for the various durations of incubation: 5, 10, 20 and 30min. They also conclude that the reduction in the intensity of this peak of absorption corresponds to a reduction in the concentration in betaxanthins following a thermal degradation.

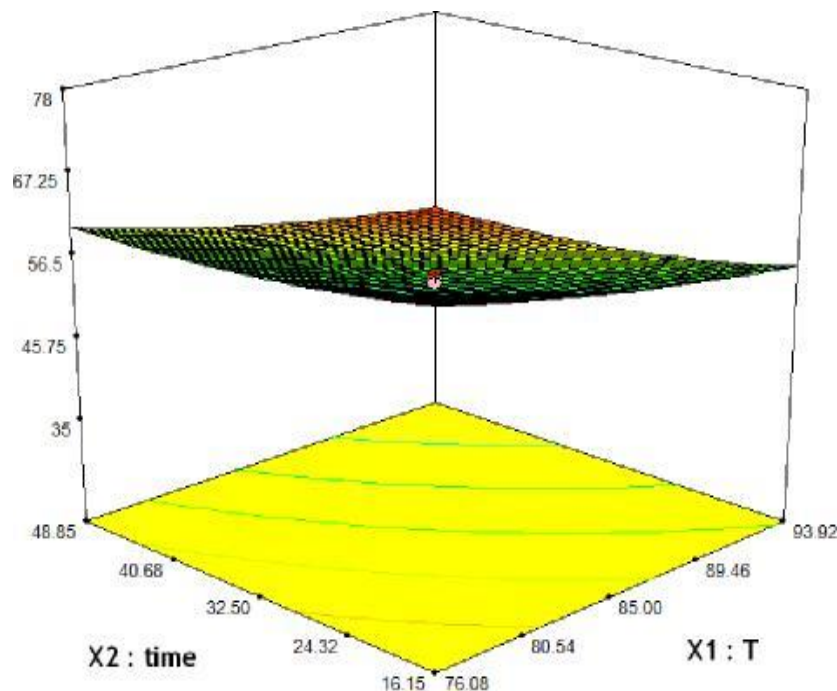


Figure 6: Response surface plots and showing the effect of temperature (X_1) and the length of heating time (X_2) on the Rate of retention of the pigment.

Studies on heat stability of indicaxanthin for orangecolored juices from *Opuntia ficus-indica* were carried out by several researchers using absorption spectra to monitor pigment loss. As reported for betacyanins [45], absorbance of indicaxanthin decreased steadily with increasing temperature and heating time. The same relation was observed by [38] upon heating of fermented yellow-orange cactus pear juice.

IV.3.2.6. Verification of predictive model

To ensure the predicted result was not biased toward the practical value, experimental rechecking was performed using this deduced optimal condition. A mean value of 79 ± 2.13 (N = 3), obtained from real experiments, demonstrated the validation of the RSM model.

The good correlation between these results confirmed that the response model was adequate for reflecting the expected optimization.

IV.4. Conclusion

The performance of the Rate of retention of the pigment in yellow prickly pear juice was studied with a statistical method based on the response surface methodology in order to identify and quantify the variables which may maximize the Rate of retention.

The three variables chosen, namely temperature, length of heating time, and pH all have an influence on the Rate of retention of the pigment using the conditions of treatment.

The optimal conditions obtained by RSM for Rate of retention of the pigment include the following parameters: temperature 76°C length of heating time 16.20 min, and pH 5.76. Under these conditions, the experimental Rate of retention of betaxanthin pigment was 79%.

Acknowledgements

We thank Professor A. Bacaoui, Faculty of Sciences of Marrakech, for the helpful discussions and the generous access to the NeMRODW software.

REFERENCES

- [1] Inglese P., Basile F. and Schirra M. Cactus pear fruit production. In: Nobel, P. S. (ed.) CACTI: Biology and uses. University of California Press 2002, 10, 163-183.
- [2] Piga A. Cactus pear: A fruits of nutaceutical and functional importance. Journal of the Professional Association for Cactus Development 2004, 9-22.
- [3] Russel C.H. and Felker P. The prickly pears (*Opuntia* spp. Cactaceae). A source of human and animal food in semiarid regions. Economic Botany 1987, 41, 433-445.

- [4] Rodriguez-Felix A. Postharvest physiology and technology of cactus pear fruits and cactus leaves. *Acta Hort. (Proc. 4th IC on Cactus Pear and Cochineal)* 2002, 581, 191-199.
- [5] Gurrieri S., Micelli L., Lanza C.M., Tomaselli F., Bonomo R.P. and Rizzarelli, E. Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 2000, 48, 5424-5431.
- [6] Piga A., Del Caro A., Pinna I. and Agabbio M. Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits. *LebensmittelWissenschaft und- Technologie* 2003, 36, 257-262.
- [7] El-Samahy S., Abd El-Hady E., Habiba R. and Moussa T. Effect of ripening stage on rheological properties of cactus pear pulp. *4th International Symposium on Food Rheology and Structure, Switzerland* 2006a, 581-582.
- [8] El-Samahy S., Abd El-Hady E., Habiba R. and Moussa T. Chemical and rheological characteristics of orange-yellow cactuspear pulp from Egypt. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2006b, 8, 39-51.
- [9] Sáenz C. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments* 2000, 46, 209-225.
- [10] Stintzing F.C., Schieber A. and Carle R. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Food Research Technology International* 2001, 212, 396-407.
- [11] Moßhammer M. R., Stintzing F. C. and Carle R. Cactus Pear Fruits (*Opuntia* spp.): A Review of Processing Technologies and Current Uses. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2006, 8, 1-25.
- [12] Saenz C. and Sepulveda E. Cactus-Pear Juices. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2001, 4, 3-10.
- [13] Krifa M., Villet A., Roussel A.M. and Alari J. New natural colorant extracted from *Opuntia stricta*. *Annales de Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique* 1994, 87, 183-192.
- [14] Saenz C. Cactus pear fruits and cladodes: A Source of functional components for foods. *Acta Hort. (Proc. 4th IC on Cactus Pear and Cochineal)* 2002, 581, 253-263.
- [15] Stintzing F.C., Schieber A. and Carle R. Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) by high-

- performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002, 50, 230-2307.
- [16] Castellar R., Obon J.J., Alacid M. and Fernandez-Lopez J.A. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 2003, 51, 2772-2776.
- [17] Reynoso R., Garcia F.A., Morales D. and & Gonzalez de Mejia E. Stability of betalain pigments from a cactacea fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997, 45, 2884–2889.
- [18] Jackman R.L. and & Smith J.L. Anthocyanins and betalains. In: *Natural food colourants* (edited by G.F. Hendry & J.D. Houghton) 1996, 244–309. London: Blackie Academic & Professional.
- [19] Huang A.S. and & von Elbe J.H. Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science* 1987, 52, 1689– 1693.
- [20] Cai Y., Sun M. and & Corke H. Colourant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, 46, 4491–4495.
- [21] Attoe E.L. and & von Elbe J.H. Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. *Journal of Food Science* 1981, 46, 1934–1937.
- [22] Ma'ria' ssova' M. and & S'ilha' r S. Conversion of betalains in the presence of antioxidants. *Czech Journal of Food Sciences* 2000, 18, 220– 221.
- [23] Herbach K.M., Rohe M., Stintzing F.C. and & Carle R. Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. *Food Reserach International* 2006a, 39, 667–677.
- [24] Giovanni M. Response surface methodology and product optimization. *Food Technol.* 1983, 45, 3741.
- [25] Chandrika L.P. and Fereidoon S. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chem.* 2005, 93, 47-56.
- [26] Lee C.H., Wettasinghe M., Bolling B.W., Ji L.L. and & Parkin K.L. Betalains, phase-II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Nutrition and Cancer* 2005, 53, 91–103.

- [27] Qiao Z.X, Liu Y.C, Yu L.M, Gao Z.M. Effect of cooling rate on microstructural formation and hardness of 30CrNi3Mo steel. *App. Phy. A* 2009, 95, 917.
- [28] Box G. and Behnken D. *Technometrics* 1960, 2, 455.
- [29] Ferreira S.L.C., Bruns R.E., Ferreira H.S., Matos G.D., David J.M. and Brand G.C. Box–Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta* 2007, 597, 179-186.
- [30] Muralidhar R.V., Chirumamila R.R. and Marchant R. A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources. *Biochem. Eng. J.* 2001, 9, 17–23.
- [31] Reynoso, R., Garcia, F.A., Morales, D. & Gonzalez de Mejia, E. (1997). Stability of betalain pigments from a cactacea fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2884–2889.
- [32] Huang, A.S. & von Elbe, J.H. (1987). Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science*, 52, 1689– 1693.
- [33] Mobhammer, M.R., Stintzing, F.C. & Carle, R. (2005). Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus* cacti and betalain-containing model solutions derived there from. *Food Research International*, 38, 975–981.
- [34] Markus R. Moßhammer · Michael Rohe · Florian C. Stintzing · Reinhold Carle. (2007). Stability of yellow-orange cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. cv. ‘Gialla’) betalains as affected by the juice matrix and selected food additives. *European Food Research and Technology*, 225:21–32
- [35] Herbach KM, Rohe M, Stintzing FC, Carle R. *Food Res. Int.* 2006, 39, 667–677
- [36] Lee S.P., Lee S.K. and Y.D. Ha. Alcohol fermentation of *Opuntia ficus* fruit juice. *Journal of Food Science and Nutrition* 2000, 5, 32-36.
- [37] El Gharras H., Hasib A., Jaouad A., El-bouadili A. and Schoefs B. Stability of vacuolar betaxanthin pigments in juices from Moroccan yellow *Opuntia ficus indica* fruits. *International Journal of Food Science & Technology* 2008, 2, 351–356.
- [38] Turker N., Coskuner Y., Ekiz H.I., Aksay S. and Karababa E. The effects of fermentation on the thermostability of the yelloworange pigments extracted from cactus pear (*Opuntia ficusindica*). *European Food Research and Technology* 2001, 212, 213- 216.

- [39] Montefiori D. Ricerche sul l'estrazione, la stabilita e l'impiego dei pigmenti del figo d'india sanguine. Tesi di laurea, Università degli studi di Milano, Italia 1990.
- [40] Markus R.M, Stintzing F.C. and Carle R. Cactus Pear Fruits (*Opuntia* spp.): A Review of Processing Technologies and Current Uses. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2006, 1-25
- [41] Son M.J. and Lee S.P. Optimization of lactic acid fermentation of prickly pear extract. *Journal of Food Science and Nutrition* 2004, 9, 7-13.
- [42] Moßhammer M.R., Rohe M., Stintzing F.C. and Carle R. Stability of yellow-orange cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. cv. 'Gialla') betalains as affected by the juice matrix and selected food additives. *European Food Research and Technology* 2007, 225, 21–32.
- [43] Coskuner Y., Turker N., Ekiz H.I., Aksay S. and Karababa E. Effect of pH and temperature on the thermostability of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) yellow–orange pigments. *Nahrung* 2000, 44, 261–263.
- [44] Cai Y., Sun M., Schliemann W. and Corke H. Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001, 49, 4429–4435.
- Merin U., Gagel S., Popel G., and Bernstein S. Thermal degradation kinetics of prickly-pear-fruit red pigment. *Journal of Food Science* 1987, 52, 485-48

Chapitre V :
**Étude des facteurs influençant la qualité
rhéologique du jus de figue de barbarie**

Chapitre V : Étude des facteurs influençant la qualité rhéologique du jus de figue de barbarie

- Introduction:

La viscosité est une mesure rhéologique qui exprime la résistance à l'écoulement lorsqu'un fluide est soumis à une force de cisaillement. En fait, cette résistance sera fonction du comportement viscosimétrique de la substance à l'étude. Les principaux types de comportement viscosimétrique dans les formulations alimentaires sont les écoulements newtonien, pseudoplastique et viscoélastique.

Dans ce cinquième chapitre de la partie expérimentale, nous avons réalisé une étude rhéologique du jus d'*Opuntia ficus indica* (O.F.I) afin de comprendre le comportement du jus de cactus avec la variation des facteurs température, temps et taux de cisaillement. Ces informations sont très importantes pour l'utilisation industrielle de ce jus.

- **Publication 5 :**

Rheological Quality and Influence Factor of Moroccan Prickly Pear Juice (*Opuntia ficus indica* L.)

Fatima Dehbi¹, Aziz Hasib^{1*}, Hicham El Batal¹, Naïma Zaki¹, Aaziz Ouattmane¹, Abderrahim Jaouad¹, Mohammed Naïmi²

1. Laboratory of Environment and Valorization of Agro-resources; Faculty of Science and Technology of Beni-Mellal; University of Sultan Moulay Slimane; Morocco
2. Laboratoire de Modelisation des Ecoulements et des Transferts, Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques, Beni-Mellal, Maroc

*E-mail of the corresponding author: azhasib@yahoo.fr

Food Science and Quality Management, Vol.22, 2013, 79-87

Abstract

Rheological properties of prickly pear juice fruit of cactus (*Opuntia ficus indica*) and impacts of temperature, shearing rate and pH value on its viscosity were studied using a rotational concentric cylinders viscometer. The results show that the viscosity of prickly pear juice decreases with the increase of its temperature and shearing rate. The solution presents pseudo-plasticity fluid, which shows the characters of shear thinning as follows: first, its viscosity decreases gradually as the temperature increases. The viscosity decreases sharply at both acid and alkaline conditions, indicating that it is influenced apparently by pH value.

Keywords: Prickly Pear, Juice, temperature, shearing rate, pH, Viscosity

V.1. Introduction

Prickly pear (*Opuntia ficus indica*) (figure 1) is one of the important commercial fruits in many countries and very well adapted to the arid and semiarid climate (Inglese et al. 2002; Piga et al. 2004). It is cultivated in Morocco and grows in many other countries such as Mexico, United States, South Africa, Australia, and Mediterranean basin countries.

One of the most frequently utilized fruit and vegetable technologies is juice production. This juice, which is a complex mixture of vitamins, polyphenols, sugar, minerals include calcium, potassium, and magnesium, ascorbic acid, fibers and free amino acids (Sepúlveda & Sáenz 1990, Hasib et al. 2006, Dehbi et al. 2013), is an excellent source of pigments such as the red-violet betacyanins and the yellow-orange betaxanthins. Cactus fruits, in contrast to red beetroot, may be used in food without negative flavour impacts as those derived from beetroot extracts.

Knowledge of the viscosity is of primary importance to the fruit juice industry, it is important in quality control, storage and processing of foods, stability measurements, and in predicting texture (Abu-Jdayil et al. 2004, El batal et al. 2012). The accurate viscosity data over wide temperature, pressure, pH, physical state of dispersion and concentration regions are needed for a various research and engineering applications in any branch of food industry.

Physicochemical and rheological properties of mucilage extracted from *Opuntia spp.* have been studied by several research groups (Trachtenberg & Mayer 1982; Cardenas et al. 1997; Medina-Torres et al. 2000; Majdoub et al. 2001).

Mucilages and gums are heteropolysaccharides with rheological properties that are of great interest for a number of applications. Biological sources of mucilage that have been studied include flaxseed gum, *Alyssum homolocarpum* seed, nopal cactus (*Opuntia ficus indica*) (Medina-Torres et al. 2000; Koocheki et al. 2009; Wang et al. 2010; Leon-Martinez et al. 2011). The demand for hydrocolloids with a specific functionality has increased recently in the foodstuffs industry (Koocheki et al. 2009). To satisfy this demand, research on new sources of polysaccharides, such as *Hylocereus undatus*, is needed. The rheological properties of dragon fruit (*Hylocereus spp.*) purees have been

studied (Liaotrakoon et al. 2011); however, the properties of mucilage isolated from the stalks of the plant have not been investigated.

Rheological properties of fruit juices also appear to be very much dependent in their varieties, state of ripening, concentration of juice/pulp and temperature variation. Therefore the present investigation was undertaken to study the rheological properties of prickly pear juice as a function of temperature, shear rates and pH.

V.2. Materials and methods

V.2.1. Experimental device

The rheological characterization of *Opuntia cactus* fruit juice solution has been performed using a rotational rheometer, shear rate imposed (RM180, Figure. 2). This unit basically consists of two concentric cylinders making, between them, a small annular space (gap) that contains the test fluid whose viscosity is to be determined. The inner cylinder (bob) is driven at constant rotation speed by direct-current motor, while the outer one (tube) is rigidly coupled to a measuring head which maintains it at rest.

A built-in microprocessor calculates the values for the viscosity η , with the aid of the measured torque, M , on the bob, the set rotation speed, Ω , and the measurement system used, according to the formula (1):

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{D}} \quad (1)$$

Where \dot{D} is the shear rate and τ is the shear stress, which are given, respectively, by:

$$\dot{D} = k_D \Omega \text{ and } \tau = k_t M \quad (2)$$

k_D and k_t being conversion factors related to the geometry of the system.

To perform measurements at different temperatures, the measuring system (bob and tube) is soaked (dipped) in a thermostat tank thermally controlled and the sample temperature is measured by a Pt100 probe immersed in the substance.

More details related to the design, functioning and use of RM180 are given in (www.mapleinstrument.com).

V.2.2. Production of juice and measurement of viscosity

Opuntia ficus indica fruits samples were collected during the period in August 2010 in the region of Marrakesh (Morocco), where they grow naturally. Three different lots of fruits were harvested, carefully washed with water to remove the glochids and the obtained juice was centrifuged (4000 x g , 30min at 4°C) and the supernatant juice was stored at -20°C before being used (figure 3).

Conventional rheometrical tests, at different temperature, were carried out for cactus juice using the RM180 above described. Before each measurement, a pre-shear at 50 s⁻¹ was applied to each sample. Then the apparent shear rate was increased step by step from 10 s⁻¹ to 1000 s⁻¹.

V.3. Results and discussion

V.3.1. Variation of the viscosity of O.F.I juice with the shear rate

The viscosity as a function of shear rate at different temperatures is shown in Figure. 3. At low shear rate, the viscosity was varied significantly in the temperature range of 20–60 °C. At high shear rate, the viscosity decreased with shear rate and its measurement became more difficult as the material was spun out of the plates at high speed.

According to the figure above represented, and generally, for a given temperature, η evolves as a hyperbolic function of \dot{D} .

The experimental data showed a non-Newtonian behaviour for the *Opuntia* juice (Figure 4), that retained its pseudoplastic characteristic, indicated by the value of the flow behaviour index (n), being less than 1 (Table 1).

This fact indicates that the pseudo-plastic behavior exhibited by aqueous solution of O.F.I derivative can be well quantified by the following power-law model, due originally to Ostwald-de Waele:

$$\eta = K \dot{D}^{n-1}$$

Where n and K are the flow behavior and consistency indexes, respectively. Then, the degree of shear-thinning for O.F.I juice solution could be measured by the value of n , which almost constant when the pseudo-plasticity are observed for three derivative solutions, showing their shear-thinning property.

Table 1: Flow behavior index (n), consistency index (K) and corresponding linear regression coefficient (LRC) for different temperatures (T).

T(°C)	N	K (Pa .S)	LRC
20	0.27	11.44	0.988
30	0.29	6.818	0.995
40	0.29	5.177	0.984
50	0.30	3.609	0.979
60	0.32	2.642	0.975

V.3.2. Effect of temperature on viscosity of O.F.I juice

Temperature has significant effect on rheological characteristics of concentrated food products. As can be seen from Figure 5, It indicates that an increase in temperature, over a range of 20–60 °C, reduce the viscosity of O.F.I juice solution, which indicates the thermo-dependent behavior of such a solution, at a constant shear rate.. This result corroborates the microscopic model of liquids viscosity according to which this quantity is a decreasing function of the temperature (Guyon et al.1991).

This expresses the dependence of the temperature effect on the shear rate and can be explained by the fact that at weak strain rates the molecular structural disintegration is not complete, which opens the way to the temperature to manifest its effect, while at strong rates of strain the intermolecular liaisons are completely broken and the temperature cannot bring more effect.

However, the effect of temperature on consistency coefficients obtained at of opuntia juice is illustrated in Figure 6. Temperature dependency of consistency coefficient from shear at different shear rate is generally expressed by Arrhenius relationship Eqs. (3):

$$K = A\dot{\gamma} \exp (E\dot{\gamma}/RT) \quad (3)$$

Where K is the consistency coefficient at shear rate, and $A\dot{\gamma}$, are the pre exponential constants; $E\dot{\gamma}$ and is the corresponding activation energy values; R is the universal gas constant and T is absolute temperature (Ahmed 2004).

In this study K undergoes a decrease with this quantity, like the viscosity. Such trends can be approached, with a linear regression coefficient (LRC) of about 0,983, by:

$$K = 22.15 \dot{\gamma} \exp (-0.03 \dot{\gamma} T) \quad (4)$$

In terms of rheological parameters n, the temperature effect is illustrated in Figure 7. It is to observe that n almost remains constant with the augmentation of T, which means that the temperature acts such that the pseudoplastic behavior tends to be Newtonian

$$n = 0.001 \dot{\gamma} T + 0.25 \quad (5)$$

The last empirical relation is as an approximation of the Arrhenius model provided the temperature variation is relatively small, which is the case in this study.

V.3.3. Influence of pH on O.F.I juice solution viscosity

The viscosity variations with pH are displayed in Figure 8 for $T=18\text{ }^{\circ}\text{C}$ and three various values of the shear rate. First, lower shear rate induces highest viscosity whatever the pH value imposed by the experience, as mentioned before. On the other hand, the viscosity evolution presents a maximum at $\text{pH}=5$ for the 10s value of the shear rate. And after this value of pH, the viscosity decreased gradually.

The reduction of the viscosity at acidic conditions may be explained by the ionization carboxyl groups above the pH 8. A comparable argument was given by Trachtenberg & Mayer (1982) who explained the increase in the intrinsic viscosity, but in this case the study is carried out on mucilage with the pH. Medina-Torres (2000) also studied the pH effect on apparent viscosity of *Opuntia ficus indica* and concluded that such increase was related to conformational changes in the molecule of the mucilage. Huei Chen

&Yuu Chen (2001) as well reported that increase in pH, increased the apparent viscosity of the green laver mucilage.

However for the two other shear rates it observed that the viscosity was not varied significantly in the pH range of 3-9. The maximum viscosity results in alkalescency of the solution.

V.4. Conclusions

In this study the influence of shear rate, temperature and pH on viscosity of juice of *Opuntia Ficus Indica* (O.F.I) has been investigated by experimental way. The corresponding main conclusions are summarized in the following:

- The O.F.I juice exhibits a pseudo-plastic behavior, since its effective viscosity is a decreasing function of the shear rate, and therefore can be classified as a non- Newtonian fluid.
- The O.F.I solution is a thermo-dependent fluid in as much as its effective viscosity decreases with the temperature, depending on whether the shear rate is lower or higher.
- The effect of the pH is such that the viscosity of O.F.I juice reaches a maximum at a pH value of pH=5 for the 10s value of the shear rate

In short, O.F.I juice can be made to reach the best useful effect according to its rheological property through suitable processing technology in concrete productive practice.

Acknowledgements

We thank Professor M. Naimi for the helpful discussions and the generous access to the rheometer.



Figure 1: Prickly pear (Opuntia ficus indica L.)

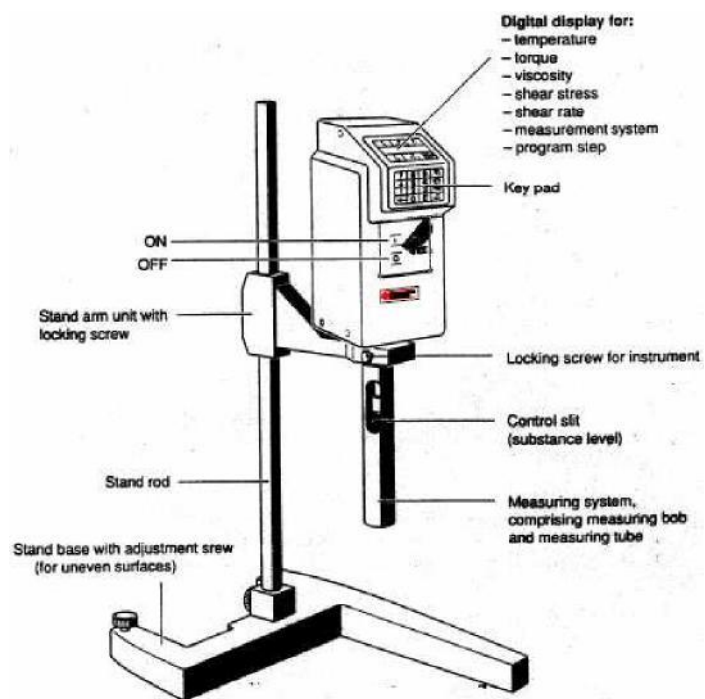


Figure 2. Torsion Couette viscometer used



Figure 3: Centrifuged prickly pear juice

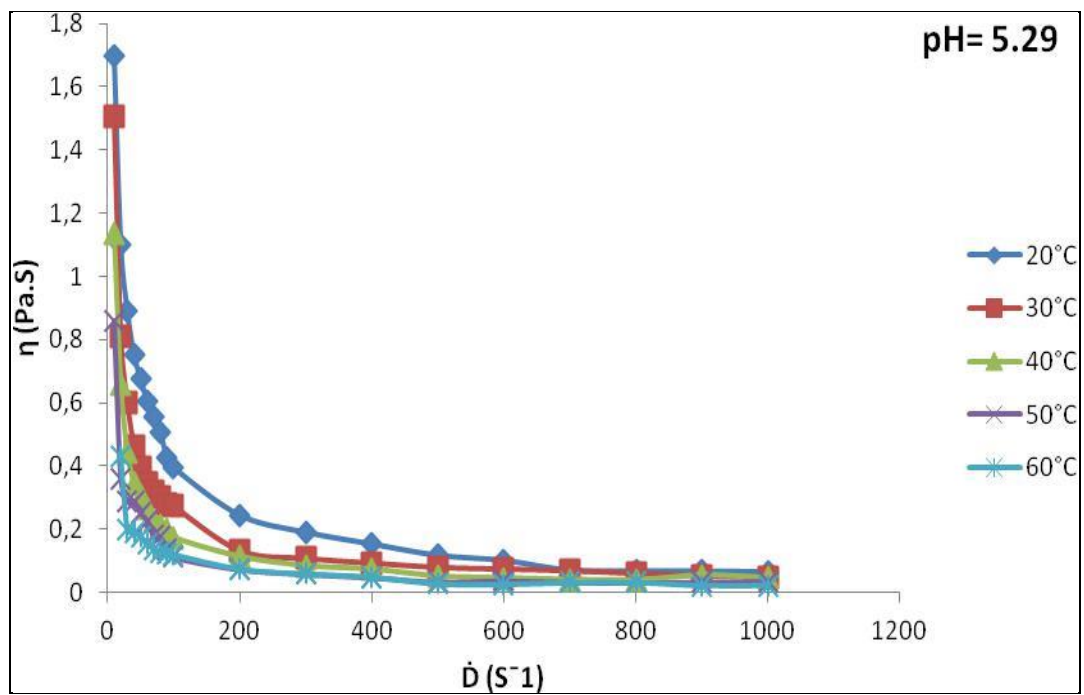


Figure 4: Effect of shear rate (\dot{D}) on the apparent viscosity (η) of O.F.I solution for different temperatures

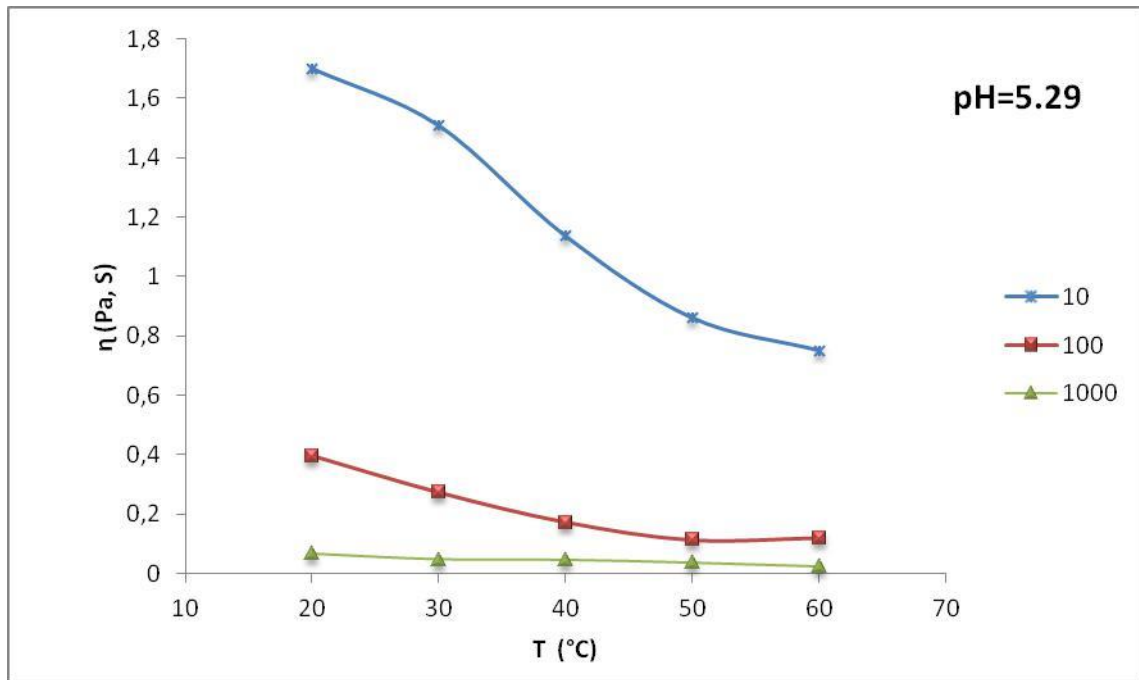


Figure 5: Evolution of the effective viscosity (η) with the temperature for different values of the shear rate

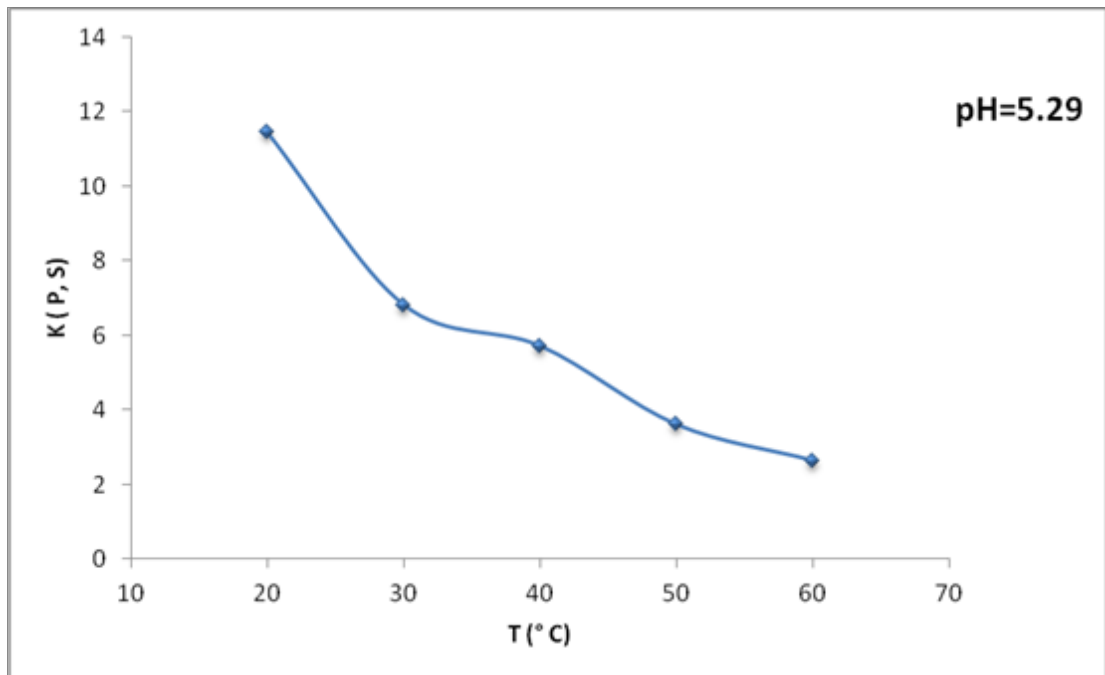


Figure 6: Variation of the consistency index (K) with the temperature (T).

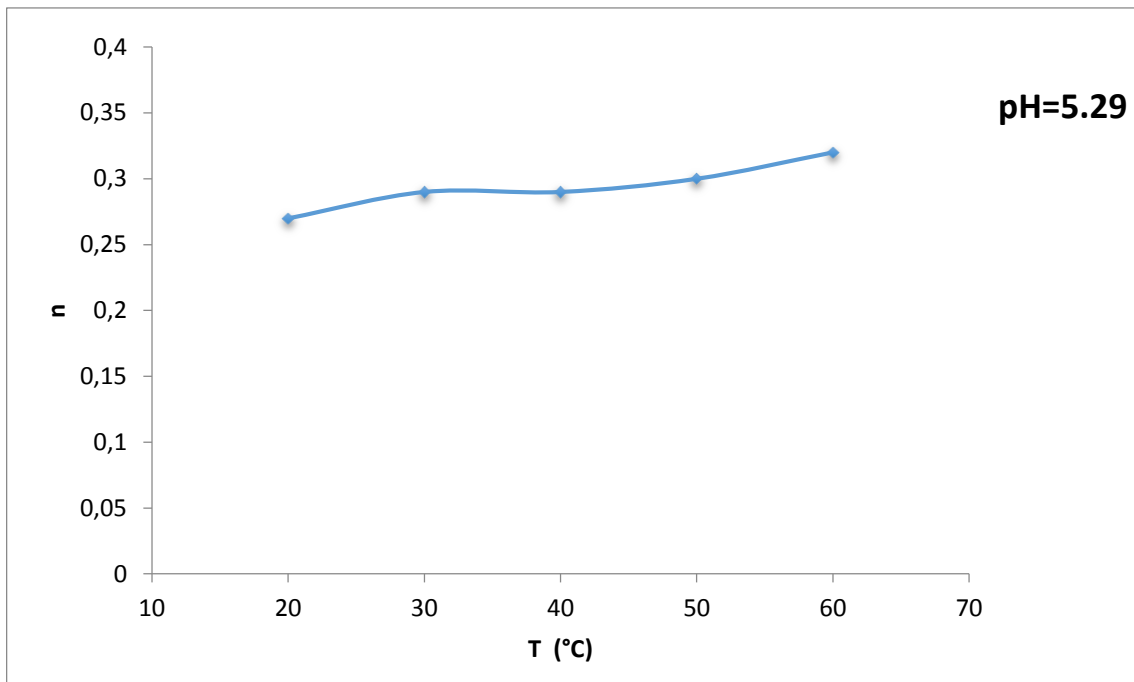


Figure 7: Variation of the behavior index (η) with the temperature (T).

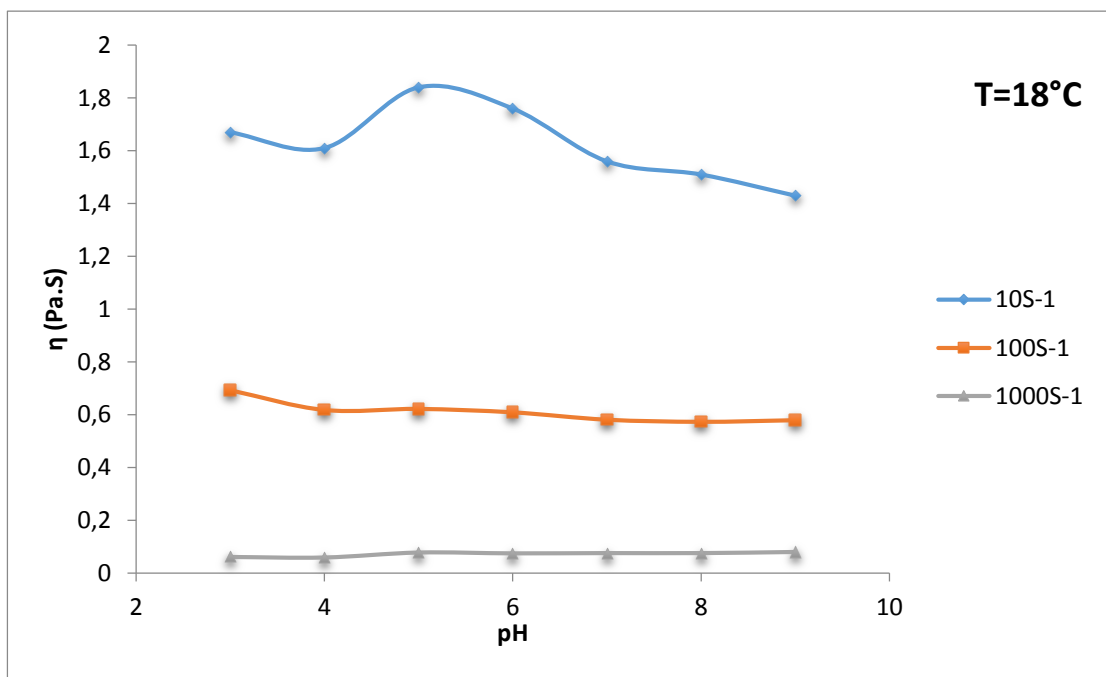


Figure 8: pH effect on O.F.I juice viscosity for different shear rates

Reference

- Abu-Jdayil, B., Banat, F., Jumah, R., Al-Asheh, S., & Hammad, S. (2004), “A comparative study of rheological characteristics of tomato paste and tomato powders solutions”, *International Journal of Food Properties*, 7(3), 4983–5497.
- Ahmed, J. (2004), “Rheological behaviour and colour changes of ginger paste during storage”, *International Journal of Food Science & Technology*, 39, 325–330.
- Dehbi, F., Hasib, A., Bouaziz, M., Ouatmane, A., Elbatal, H., Jaouad, A. & Sayadi, S. (2013), “Effect of phenolic compounds and betalain pigments on the antioxidant capacity of Moroccan prickly pear juices”, *Nature & Technology , Journal B-Agronomic & Biological Sciences*, 09, 02-07
- El Batal H., Hasib A., Ouatmane A., Jaouad A., Naïmi M. (2012), “Rheology and influence factor of Locust Bean Gum solution”, *Revue de génie industriel*, 8, 55-62
- Guyon E., Hulin J. P. & Petit L. (1991), “Hydrodynamique physique”, *Savoirs Actuels*, Inter Editions/Editions du CNRS , Chap. 2, 65-87.
- Hasib A. et al. (2006), “Chemical and physical characterization of three cultivars of Moroccan yellow Prickly pears (*Opuntia ficus-indica*) at three stages of maturity”, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(2) 93-99.
- Huei Chen, R. & Yuu Chen, W. (2001), “Rheological properties of the water-soluble mucilage of a green laver, *Monostroma nitidium*”, *Journal of Applied Phycology*, 13, 481–488.
- Inglese, P., Basile, F. & Schirra, M. (2002), “Cactus pear fruit production. Nobel, P. S. (ed.) *CACTI: Biology and uses*”. University of California Press, 10, 163-183
- Koocheki, A., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., Razavi, S. M. A. & Taherian, A. R. (2009), “Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent”, *Journal of Food Engineering*, 91, 490–496.
- Leon-Martinez, F. M., Rodriguez-Ramirez, J., Medina-Torres, L., Mendez Lagunas, L. L. & Bernad-Bernad, M. J. (2011), “Effects of drying conditions on the rheological

properties of reconstituted mucilage solutions (*Opuntia ficus-indica*) ”, *Carbohydrate Polymers*, 84, 439–445.

Liaotrakoon, W., De Clercq, N., Van Hoed, V., Van de Walle, D., Lewille, B. & Dewettinck, K. (2011), “Impact of thermal treatment on physicochemical, antioxidative and rheological properties of white-flesh and red flesh dragon fruit (*Hylocereus* spp.) Purees”, *Food and Bioprocess Technology*, 1–15. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0722-4>

Majdoub, H., Roudesli, S., Picton, L., Le Cerf, D., Muller, G. & Grisel, M. (2001). “Prickly pear nopals pectin from *Opuntia ficus indica* physico-chemical study in dilute and semi-dilute solutions”. *Carbohydrate Polymers*, 46, 69–79.

Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana Sanchez, B. & Kattain, R. (2000), “ Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*) ”, *Food Hydrocolloids*, 14, 417–424.

Piga, A. (2004), “Cactus pear: A fruits of nutaceutical and functional importance”, *J. Profess. Assoc. Cactus Develop*, 9-22

Sepúlveda, E. & Sáenz, C. (1990), “Chemical and physical characteristics of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) pulp”, *Rev. Agroquim. Technol. Aliment*, 30, 551-555.

Trachtenberg, S. & Mayer, A. M. (1982), “Biophysical properties of *Opuntia ficus indica* mucilage”, *Phytochemistry* , 21(12), 2835–2843.

Wang, Y., Li, D., Wang, L.-J., Li, S.-J. & Adhikari, B. (2010), “Effects of drying methods on the functional properties of flaxseed gum powders”, *Carbohydrate Polymers*, 81, 128–133.

www.mapleinstrument.com.

- **Synthèse et Discussion**

Synthèse et Discussion :

La première partie du travail avait pour objectif : la caractérisation morphologique des fruits de cactus puis la détermination de la composition physico-chimique du jus extraits de neuf cultivars recueillis au niveau de huit régions de provenance représentatives du Maroc : *Skhour Rehamna*, *ElKelâa*, *Tamellalet*, *Ras Elain*, *Ben Guerir*, *Doukkala*, *Ait Baâmrane* et *Khouribga*, ceci afin de différencier les collections locales et les comparer à celles des autres pays.

Ces résultats montrent qu'il existe une variation de la caractérisation physique des fruits en fonction du cultivar. La détermination des longueurs (L) et des diamètres (D) nous a permis d'avoir des informations sur la forme des fruits des différents cultivars.

Les **diamètres** des figues de barbarie étudiées varient de 4,5 à 5,43 cm. Nous constatons que la variété Rouge de Khouribga est celle dont les figues de barbarie présentent le diamètre le plus élevé suivie par la variété d'*Ait Baâmrane*. Par contre la variété d'*El kelâa* est celle qui présente le diamètre moyen le plus faible.

Les **longueurs** des figues de barbarie étudiées varient de 6,72 à 8,08 cm. Les figues de barbarie du cv. *Ben Guerir* présentent les valeurs les plus élevées. Ces résultats sont légèrement supérieurs à ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle la Turkey (6,60 à 7,10 cm) [224,225].

En ce qui concerne le **poids** du fruit et le poids en pulpe, nous avons constaté que les fruits du cv. *Rouge de Khouribga* présentent les valeurs les plus importantes suivis par ceux du cv. *Ben Guerir*. Les valeurs des poids de fruit obtenus sont légèrement supérieures par rapport aux fruits originaires de la Turquie et inférieures à celles correspondantes aux cultivars de l'Égypte. Les poids de pulpes sont élevés par rapport à ceux des fruits Mexicains et Chiliens et inférieurs à ceux correspondants aux fruits de l'Afrique du sud. Par contre, les poids en graines et en écorce sont supérieurs à ceux des fruits Italiens ce qui est en parfaite concordance avec ceux des fruits Marocains.

Le rendement de figue de barbarie en jus varie en moyenne de 29,65 à 39,76%. Il est très important chez le cv de *SkhourRehamna*, moyen chez les trois autres cultivars, *El Kelâa*, *Doukkalaet Ras Elain* et faible chez le cultivar d'*Ait Baâmrane*. Ces données

sont légèrement élevées par rapport aux résultats obtenus lors d'un travail réalisé par l'équipe de notre laboratoire [13].

La composition physico-chimique du jus des échantillons recueillis au niveau des huit régions de provenance, montre une variabilité d'une région à l'autre. Celle-ci peut être liée aux cultivars et aux conditions climatiques [13].

Le jus de figue de barbarie se caractérise par une importante teneur en eau (89,18 à 91,87%) par rapport aux autres fruits communs. Elle est nettement plus riche en sucres, puisqu'on en trouve 97,21 à 165,77 g/Kg en moyenne (dans la plupart des fruits communs, l'apport est généralement compris entre 80 et 100 g par Kg). Ces résultats sont comparables à ceux rapportés dans d'autres régions du monde [226,227,228], mais ils sont inférieurs à ceux étudiés à l'Egypte par **S. K. El-Samahy et al.**[229].

Les figues de barbarie se caractérisent par un pH élevé avec des valeurs variant de 5,27 à 5,95, qui les classent parmi les aliments faiblement acides. Ces valeurs sont comparables à celles citées dans la littérature [13,29].

Les jus des figues de barbarie étudiés sont caractérisés par une acidité particulièrement faible (entre 0,046 et 0,098 g acide citrique/100g de jus) par comparaison avec d'autres fruits communs tel que : poires, oranges, pommes, pêches, fraises, kiwi, et abricots.

Les protéines sont très peu abondantes dans les échantillons des huit régions de figuier de barbarie analysés avec des teneurs comprises entre 1,14 – 3,53 g/Kg. La valeur la plus élevée a été détectée dans les fruits du cv. *Ait Baâmrane*. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par d'autres chercheurs de l'ordre de 1,4 à 5,2 g/Kg [13,53,226,230], inférieurs à ceux trouvés dans les fruits Mexicains et Chiliens [56,231], qui sont de l'ordre de 2,1 à 30 g/Kg et supérieure à ceux étudiés par **Díaz Medina et al. et Barroca et al.** [53,232] qui sont de l'ordre de 0.52 à 0.94%.

Au niveau du profil minéral, le taux de cendres varie entre 2,76 et 4,17 g/kg MS. Ces valeurs sont en conformité avec la gamme trouvée par d'autres chercheurs [53,116,233].

La variabilité importante des résultats d'un cultivar à l'autre peut être expliquée par la relation entre les teneurs en constituants minéraux du fruit et la composition minérale des sols dans les régions de culture.

Parmi les minéraux, dont l'apport est très diversifié, le potassium occupe une place privilégiée : du fait de sa relative abondance 1243-2209 mg/Kg MS. Phosphore,

Calcium, sodium et magnésium font partie des minéraux dont le jus de figue de barbarie est bien pourvue. On note aussi la présence des oligo-éléments en quantités moyennes non négligeables, puisqu'on relève la présence du fer, zinc et cuivre. Ces résultats se concordent avec ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée [230,234].

Nous avons constaté également que les résultats obtenus pour les jus des fruits étudiés sont très variables d'un échantillon à l'autre. Ceci peut être attribué à la variation des facteurs agronomiques caractérisant chaque région, du climat, de la composition du sol, des procédés agro techniques différents, du degré de maturité à la récolte et de la fertilisation azotée et minérale.

L'effet des conditions agro-climatiques et de l'origine géographique de la figue de barbarie produit dans les différentes régions sélectionnés dans cette étude était significatif en termes de teneurs en éléments bioactifs étudiés. En général, les échantillons étudiés sont riches en composés phénoliques (354,37-643,66 $\mu\text{g/g}$), flavonoïdes (24,67-49,03 $\mu\text{g catechine eq./g}$), flavonols (10,7 -32,67 $\mu\text{g rutine eq./g}$) et pigments bétalaines (15,84 -51,33mg indicaxantine/du jus). Toutefois, les meilleurs teneurs en polyphénols et en bétaxanthines ont été obtenus pour le cv *d'Ait Baâmrane* (643,66 $\mu\text{g/g}$). Les résultats obtenus pour les teneurs en polyphénols sont supérieures à ceux enregistrés par **R. A. Chavez-Santoscoy. et al.[235]** qui sont de l'ordre de 22.3 à 226.3 $\mu\text{g/g}$ pour les fruits de figuier de barbarie Mexicaine.

L'activité antioxydante des jus évaluée en utilisant le radical DPPH et l'ABTS a montré que tous les extraits ont été en mesure de réduire ces radicaux : de 52,48 à 135,96 $\mu\text{g/ml}$ du jus pour DPPH et de 0,16 à 0,24 mM TE/g pour l'ABTS. Les meilleures capacités antioxydantes ont été obtenues par le jus extrait des fruits *d'Ait Baâmrane* présentant des teneurs élevées en polyphénols totaux aussi bien pour le radical DPPH que pour l'ABTS.

Pour les différents extraits étudiés, le potentiel antioxydant évalué par le test ABTS est relativement élevée par rapport aux extraits méthanoïques des fruits d'opuntia originaires de l'Italie et à ceux correspondants aux cultivars Mexicains [75,235]. Une bonne corrélation (DPPH : $R^2=0,959$; ABTS : $R^2= 0,868$) a été établie entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux prouvant que l'activité observée est due

en grande partie à ces métabolites. Plusieurs études ont rapporté la relation positive entre la teneur en polyphénol et l'activité antioxydante [236,237].

En plus de leur capacité de coloration, les pigments des figues de barbarie présentent des propriétés biologiques importantes, comme étant des antioxydants. La teneur en bétaxanthines des neuf jus a été positivement corrélée avec la capacité antioxydante avec des coefficients de corrélation (DPPH : $R^2=0,632$; ABTS : $R^2=0,613$) inférieure à ceux obtenus pour les polyphénols totaux, ce qui suggère que les composés phénoliques contribuent de manière plus significative à la capacité anti-oxydante que les pigments bétalaines. Cependant, nous n'avons observé aucune corrélation entre l'activité antioxydante et les teneurs en flavonoïdes et flavonols totaux.

Le pouvoir antioxydant des composés bioactifs présents dans le jus de figue de barbarie lui confère la capacité de capter les radicaux libres qui réduisent le risque de cancer. D'après notre étude, la plupart des jus étudiés ont donnés une activité cytotoxique différentielle envers la lignée tumorale P815. Cette activité anticancéreuse est dépendante de la concentration utilisée, dans la mesure où le pourcentage de lyse augmente au fur et à mesure qu'on augmente la concentration des jus. D'après nos résultats, c'est le jus de la région *Ras Elain* qui a montré une activité anticancéreuse in vitro importante par rapport aux autres jus étudiés avec une $IC_{50}= 18\mu\text{g/mL}$. Cette activité anticancéreuse pourrait être liée à la richesse du jus de figue de barbarie en produits antioxydants. Des résultats similaires ont été rapportés par **Joana Margarida [238]** qui a étudié le potentiel anticancéreux des jus *d'espèces d'opuntia*, sur une lignée de cellules cancéreuses (HT29). Toutefois, d'autres constituants de figues de barbarie sont derrière l'activité anticancéreuse à savoir les pigments bétalaines tel qu'il a été observé chez *opuntia robusta* présentant de faibles teneurs en polyphénols et une faible activité antioxydante [240]. Les mêmes constatations ont été rapportés par **Sreekanth, et al. [239]**. Les jus ainsi que les extraits de fruits d'*opuntia* ont été déjà rapportés avoir un effet inhibiteur de la croissance des lignés cellulaires cancéreuses dérivées de différents organes humains [78,235].

En guise de conclusion, ces résultats mettent en évidence le potentiel anticancéreux de nos jus issus *d'Opuntia ficus indica*. En perspective, il serait intéressant d'évaluer le spectre d'action de nos jus sur d'autres lignées de cellules cancéreuses. Aussi, il est

nécessaire d'évaluer l'activité anticancéreuse d'*Opuntia ficus indica* sur un modèle de souris porteuses de tumeur. Des études préliminaires sur les mécanismes d'action pourraient aussi être effectuées.

Les pigments, en plus de leur rôle antioxydant, participent essentiellement à la qualité sensorielle du jus de figue de barbarie. Leur conservation au cours de la production des jus est d'une grande importance. Ces pigments peuvent être affectés par plusieurs facteurs au cours des processus de transformation. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'optimisation de la stabilité des pigments bétaxathines du jus en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.

Afin d'évaluer l'influence des conditions expérimentales sur la stabilité des pigments bétaxanthines du jus de figues de barbarie, nous avons, dans une première étape, utilisé une matrice de criblage pour identifier les facteurs influents parmi un ensemble de six facteurs, à savoir, le pH, l'acide citrique, l'acide ascorbique, la lumière, le temps et la température. Les résultats obtenus, ont montré que le pH, la température et la durée de traitement présentent des coefficients les plus importants.

Dans un deuxième temps, les trois facteurs influents, ont été étudiés et optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type composite centré (PPC).

Les résultats de la conception expérimentale ont été étudiés et interprétés par le logiciel Nemrodw pour estimer la réponse de la variable dépendante dans l'ensemble des expériences. La conception centrale composite (PPC) se compose de trois variables indépendantes à savoir X_1 (température), X_2 (la durée d'incubation) et X_3 (pH). Aussi, à part les effets linéaires, le modèle prend en compte les effets quadratiques X_i^2 et les effets d'interaction X_{ij} .

La réponse est le taux de rétention de pigment (en %). Elle est représentée par les modèles de second ordre suivants :

$$Y=54.41 - 11.35 * X_1 - 8.82 * X_2 + 6.54 * X_3 - 1.11 * X_1 * X_2 + 2.30 * X_1 * X_3 + 1.45 * X_2 * X_3 + 1.38 * X_1 * X_1 + 0.99 * X_2 * X_2 + 0.52 * X_3 * X_3$$

L'analyse de la variance (ANOVA) du modèle de régression quadratique montre que les modèles sont hautement significatifs au seuil de 1 %.

La probabilité P-valeurs relative au modèle de régression est très faible (P-valeur = 0,0001), ce qui montre la signification du modèle. De plus, la contribution de chacun des termes linéaires, quadratiques et interactions est hautement significative au seuil de 1% (P-valeur < 0,01). Par conséquent, on peut conclure que le modèle de prédiction est hautement significatif et estime de manière adéquate les données observées. La valeur de coefficient de détermination du taux de rétention de pigment est $R^2 = 0,9945$. Cette valeur élevée indique que 99,45 % d'une simple variation du taux de rétention de pigment est expliquée par les variables indépendantes. La valeur du coefficient de détermination ajustée est également très élevée, soit $R^2_{adj} = 0,9896$, suggérant une haute signification du modèle et une bonne corrélation de ce dernier par rapport aux données expérimentales.

Les effets linéaires, quadratiques et les interactions sont significatifs pour la réponse, hormis l'effet quadratique (X_3^2).

L'étude des représentations tridimensionnelles des surfaces de réponses nous a permis l'optimisation du taux de rétention de pigment et l'identification des interactions entre les variables. Les principales informations qu'on a pu tirer concernant les conditions optimales de rétention de pigment sont :

- L'effet de la température sur la stabilité des bétaxanthines par traitement des jus à différentes températures (70 à 100°C) pendant des durées d'incubation allant de 5 à 60 min montre une baisse de l'intensité d'absorption à 482 nm au fur et à mesure que la température de traitement augmente ; et ceci pour les différentes durées d'incubation. Cette baisse correspond à une diminution de la concentration en bétaxanthines suite à une dégradation thermique. (figure 6, page 110)
- L'augmentation de la température de 70 à 100°C entraîne une diminution du taux de rétention. En outre cette diminution est plus significative sur le taux de rétention quand le pH est maximal. De la même façon, l'augmentation du pH de 3 à 6.5 entraîne une diminution du taux de rétention des pigments. En outre cette diminution est plus significative sur le taux de rétention quand la température est maximale. (figure 4 , page 107)

- le taux de rétention de pigment a diminué avec l'augmentation de la durée d'incubation. L'effet de cette diminution est plus significatif sur le taux de rétention quand le pH (X3) est maximal. (figure 5, page 109)

Le tracé des surfaces de réponses révèle l'existence d'un taux de rétention maximal de bétaxanthines de l'ordre de 79% pour une température de 76°C, une durée d'incubation de 16,20 min et une valeur de pH de 5,76.

Les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus pour des bétaxanthines extraites de jus de fruits de différentes origines. **Coskuner et al.** ont rapporté que la rétention optimale de bétaxanthines a été obtenue à pH 5, alors que **Cai et al.** ont cité que le pH optimal est de 5,5 [188,240].

Montefioriet al.[241] a rapporté que par combinaison de l'effet du pH et de la température, la stabilité des pigments de cultivars Italiens d'*Opuntia ficus-indica* était meilleure aux pH faibles pour des traitements de 60 et 70°C.

D'après les résultats enregistrés par **El Gharras et al.**, les meilleurs taux de rétention ont été obtenus à pH 5 pour les différentes températures de traitement et durées d'incubation étudiées [13]. Dans d'autres études l'effet du pH est également étudié mais avec la présence des stabilisants tel que les acides ascorbique, isoascorbique, et citrique [242]. Cette dernière étude prouve que les échantillons chauffés à pH 6 ont des conservations considérablement plus élevées de bétaxanthine que dans des jus chauffés à pH 4..

Dans **le dernier chapitre** de cette partie, nous avons réalisé une étude rhéologique pour comprendre le comportement du jus des fruits jaunes de *l'opuntia ficus-indica* marocaine au dépend des facteurs température, pH et taux de cisaillement. Ces informations sont très importantes pour l'utilisation industrielle du jus.

Les résultats obtenus montrent que le jus étudié présente un écoulement non Newtonien. La variation de la viscosité, à différentes températures, a été examinée en fonction du gradient du taux de cisaillement. En effet, la viscosité est élevée aux faibles taux de cisaillement mais diminue pour les plus grands, ceci est dû à la désagrégation du réseau macromolécules et à son alignement dans la direction du cisaillement.

En fixant le pH et la vitesse de cisaillement, l'augmentation de la température provoque un abaissement de la viscosité apparente et donc de l'indice de consistance K , alors que l'indice d'écoulement n reste constant. Cette diminution peut être due à la linéarisation des macromolécules [249,250], ou en raison du mouvement macromoléculaire accru et de la diminution du poids moléculaire dû à leur dégradation thermique [251].

L'évolution de la viscosité présente un maximum à $\text{pH}=5$ pour toutes les valeurs explorées du taux de cisaillement. Après cette valeur du pH, la viscosité a diminué graduellement. Cela semble plus clair pour le taux de cisaillement de 10S^{-1} . Ce comportement peut être attribué aux conditions acides par l'ionisation des groupes carboxyles au-dessus du pH 8, ce qui peut modifier la force ionique des solutions en fonction de la valeur du pH [252].

Conclusion générale

- Conclusion Générale

Dans une étude bibliographique approfondie, nous avons décrit les caractères botaniques de la figue de barbarie, ses exigences écologiques, sa répartition géographique, sa variabilité génétique au Maroc et son importance agro-économique. Ensuite, nous avons rappelé les résultats cités dans la littérature concernant la composition physico-chimique de ses fruits et leur utilisation nutritionnelle et médicinale. Ces études nous ont permis de conclure que *l'Opuntia ficus-indica* est l'exemple typique d'espèce parfaitement convenable pour la mise en valeur des zones arides et semi-arides du Maroc. Sa culture peut contribuer au développement agricole dans ces zones. Ces fruits présentent un intérêt nutritionnel intéressant qui permet de les classer parmi les aliments nutraceutiques par excellence.

En plus, la figue de barbarie constitue une source prometteuse de pigments bétalaines naturels dont le pouvoir antioxydant leur procure une place importante parmi les colorants alimentaires naturels. Pour cela, nous avons décrit, pour les pigments bétalaines, la classification, les structures, les voies de biosynthèse, la production biotechnologique, l'extraction, la stabilité et les méthodes de caractérisation. Nous avons présenté également, des éléments bibliographiques essentiels relatifs à la méthodologie des plans d'expériences.

Dans la partie expérimentale, nous avons procédé dans un premier temps à la caractérisation physico-chimique des jus de figue de barbarie de neuf cultivars recueillis au niveau de huit régions de provenance représentatives du Maroc : *Skhour Rehamna, El Kelâa, Tamellalet, Ras Elain, Ben Guerir, Doukkala, Ait Baâmrane* et *Khouribga*. Ceci nous a permis de conclure que la composition physico-chimique des différents fruits analysés varie nettement en fonction du cultivar.

La détermination des caractéristiques morphologiques des différents cultivars étudiés, nous a permis de conclure, que les fruits de figuier de barbarie marocains sont généralement caractérisés par des formes ellipsoïdales. En ce qui concerne les poids du fruit, de la pulpe et des graines, nous avons constaté que les fruits *rouges de Khouribgua* présentent les valeurs les plus importantes. Pour le rendement en jus, les figues de barbarie de *Skhour Rehamna* présentent les valeurs les plus élevées. Les poids en pulpes sont moins élevés par rapport aux fruits de l'Afrique de sud, et supérieures à ceux

correspondants aux fruits de la Turquie.

D'après les résultats obtenus, la figue de barbarie Marocaine est un fruit juteux et parfumé, avec un arôme floral agréable ce qui permet de la classer parmi les fruits exotiques. Elle est riche en eau et possède une saveur douce et délicatement sucrée puisqu'elle est nettement plus riche en sucres que les autres fruits communs avec des teneurs supérieures à celles rapportées pour des figues de barbarie Italiennes.

Aussi, les figues de barbarie se caractérisent par une acidité particulièrement faible et un pH élevé qui les classe parmi les fruits faiblement acides. Les valeurs obtenues sont comparables à celles citées dans la littérature.

Le jus de la figue de barbarie Marocaine est caractérisé aussi par des pourcentages en matière sèche dissoute, comparables à ceux cités dans la littérature pour des cultivars de différentes origines, mais significativement élevés par rapport aux autres fruits communs. Les protéines sont très peu abondantes avec des teneurs inférieures aux cultivars de différentes origines.

Parmi les minéraux, dont l'apport est très diversifié, le potassium occupe une place privilégiée du fait de sa relative abondance. Ces teneurs sont inférieures à celles trouvées pour des fruits de figuier de barbarie Italiens et élevées par rapport aux fruits Mexicains et Chiliens.

Le phosphore, le calcium, le sodium et le magnésium font partie des minéraux dont le jus de figue de barbarie Marocaine est bien pourvue. Par comparaison avec des cultivars de différentes origines, les valeurs obtenues sont plus ou moins élevées pour le sodium et le calcium, comparables pour le phosphore et faibles pour le magnésium.

Nous avons noté aussi la présence des oligo-éléments en quantités moyennes non négligeables dans les jus. Les teneurs en fer, zinc, cuivre et en manganèse sont généralement comparables à celles rapportées pour des fruits de différentes origines. La figue de barbarie contribue ainsi efficacement à la couverture du besoin minéral de l'organisme, grâce à ce large éventail d'apport.

En ce qui concerne les éléments bioactifs, les jus étudiés sont riches en composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols et pigments bétalaines. Les meilleurs teneurs en polyphénols et en bétaxanthines ont été obtenus pour le cultivar provenant *d'Ait*

Baâmrane. Les valeurs obtenues sont supérieures à celles enregistrées dans les fruits de figuier de barbarie Mexicaine.

L'activité antioxydante des jus évaluée en utilisant le radical DPPH et l'ABTS a montré que tous les extraits ont la capacité de réduire ces radicaux. Les meilleures activités antioxydantes ont été obtenues pour le jus extrait des fruits *d'Ait Baâmrane* aussi bien pour le radical DPPH que pour l'ABTS.

Les teneurs en bétaxhantines et en polyphénols totaux des neuf jus étudiés ont corrélé positivement avec la capacité antioxydante avec des coefficients de corrélation supérieurs pour les polyphénols totaux, ce qui suggère que ces derniers contribuent de manière plus significative à la capacité antioxydante par rapport aux pigments bétalaïnes.

La conservation des pigments au cours de la transformation des jus est d'une grande importance pour maintenir la qualité organoleptique du produit final. Ces pigments peuvent être affectés par plusieurs facteurs au cours des processus de transformation. C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés, dans la troisième partie du travail, à l'optimisation de la stabilité des pigments bétaxanthines dans le jus de figue de barbarie.

Dans une première étape, nous avons réalisé une étude de criblage des facteurs, à savoir, le pH, l'acide citrique, l'acide ascorbique, la lumière, la durée de traitement et la température pour évaluer l'influence de ces facteurs sur le taux de rétention des pigments.

Les résultats obtenus ont permis d'identifier les trois facteurs les plus influents sur la stabilité de pigments bétaxanthines du jus, à savoir, la température, le temps de traitement et le pH. Ces trois variables, ont été optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type composite centré. La méthodologie des surfaces de réponses nous a permis de modéliser la réponse (taux de rétention de pigment) étudiée sous forme d'une équation polynomiale du second degré.

Le tracé des surfaces de réponses révèle l'existence d'un taux de rétention maximal de bétaxanthines de l'ordre de 79% pour une température de 76°C, un temps de 16,20 min et un pH de 5,76.

Dans le dernier chapitre de cette partie, nous avons réalisé une étude rhéologique pour comprendre le comportement rhéologique du jus de figue de barbarie au dépend des facteurs tel que la température, le temps et le taux de cisaillement.

Les résultats obtenus ont prouvé que la solution de jus de figue de barbarie étudiée montre un comportement cisailleur-amincissant, qui consiste à une diminution de la viscosité avec le taux de cisaillement pour une température donnée. Nous avons également observé une diminution de la *viscosité effective* η avec la température, ce qui indique un comportement thermo-dépendant d'une telle solution. Ces résultats nous ont permis de tirer les principales conclusions suivantes :

- Le jus d'O.F.I présente un comportement pseudo-plastique, car sa viscosité effective est une fonction décroissante de la vitesse de cisaillement, et par conséquent, peut être classé comme un fluide non newtonien
- La solution d'O.F.I est un fluide thermo-dépendant dans la mesure où sa viscosité effective diminue avec la température, selon que la vitesse de cisaillement est supérieure ou inférieure.
- L'effet du pH est tel que la viscosité du jus d'O.F.I présente un maximum à pH 5 pour toutes les valeurs explorées du taux de cisaillement.

- Références bibliographiques

- [1] Boujghagh M. & Chajia L., 2001. Le cactus : outil de gestion de la sécheresse dans le Sud Marocain. *Terre et Vie*, 52: 1-7.
- [2] Kuti JO., 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food chemistry*, 85(4): 527-533.
- [3] Tesoriere L., Fazzari M., Allegra M. & Livrea M., 2005. Biothiols, taurine, and lipid-soluble antioxidants in the edible pulp of Sicilian cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20): 7851-7855.
- [4] Jackman R. L. & Smith J. L., 1996. Anthocyanins & betalains. In G. F. Hendry, & J. D. Houghton (Eds.), *Natural food colorants*. London: Blackie Academic & Professional, pp: 244–309.
- [5] Markus R. Moßhamme., Florian C. Stintzing. & Reinhold Carle., 2006. Cactus Pear Fruits (*Opuntia* spp.): A Review of Processing Technologies and Current Uses. *J. PACD*
- [6] Herbach, K.M., Stintzing, F.C. & Carle, R. 2006b. Betalain stability and degradation – structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71: R41–R50.
- [7] Mulas M., D'Hallewin G. & Canu D., 1992. Osservazioni sulla radicazione di cladodi di un anno di *Opuntia ficus-indica* Mill." *Rivista di frutticoltura*, 10: 67-60.
- [8] Ayouz M., Alary V. & Mekersi S., 2012. Analyse par enquête et modélisation de la place et du rôle de l'*Opuntia* (*Opuntia ficus-indica*) dans les systèmes agraires algériens semi-arides. *Cahier Agriculture*, 21: 438-447.
- [9] Park E.H., J.H. Kahng. & E.A. Paek., 1998. Studies on the pharmacological action of cactus: identification its anti-inflammatory effect. *Arch. Pharm. Res*, 21(1): 30-34.
- [10] M. L. C. Medellin., S. O. S. Salvidar. & J. V., 1998. De la Garza, *Arch. Latinoam. Nutr*, 48: 316-323.
- [11] Barbera, G. & Inglese, P., 1992. Past and Present Role of the Indian Fig Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, Cactaceae) in the Agriculture of Sicily. *Eco. Bot.* 461: 10-20.
- [12] PIMIENTA-BARRIOS, E., 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, México.
- [13] El Gharras, H., 2007 ; Contribution A La Valorisation Alimentaire Des Fruits Jaunes De L'opuntia Ficus Indica Marocaine : Caracterisation Physico-Chimique Et Étude De La Stabilité Des Bétaxanthines De Leur Jus. Thèse de doctorat national.
- [14] Felker P., Rodriguez, S. del C., Casoliba, R.M., Filippini, R., Medina, D. & Zapata,

- R., 2005. Comparison of *Opuntia ficus-indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. *J Arid Environ*, 60: 405- 422.
- [15] Hoicke, C. & Stintzing, F.C., 1999. Kaktusfeigen - wenigbekannte Früchte. *Naturwissenschaftliche Rundschau*, 52: 97-101.
- [16] Spichiger, R.E., Savolainen, V.V. & Figeat, M., 2000. Botanique systématique des plantes à fleurs- une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes, Lausanne, Suisse.
- [17] Fouqué, A., 1969. Espèces fruitières d'Amérique Tropicale. IFAC, Paris, France, famille des Cactaceae.
- [18] POUPON, J.E., 1975. Cactus et ressources fourragères. Dans Amélioration et aménagement des parcours forestiers : MAMVA.
- [19] Arba, M., EL Aich, A., Sarti, B., Belbahri L., Boubkraoui, A., Aït Hammou, A. & al., 2000. Valorisation du figuier de barbarie en élevage. *Bull. Mens. Inf. et de Liaison du PNTTA*, 68 : 1- 4.
- [20] Stintzing F.C., K.M. Herbach., M.R. Mosshammer., R. Carle., W.G. Yi., S. Sellappan., C.C. Akoh., R. Bunch. & P. Felker., 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *J Agric Food Chem*, 53: 442-451.
- [21] Gurrieri, S., Miceli, L., Lanza, C.M., Tomaselli, F., Bonomo, R.P. & Rizzarelli, E., 2000. Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) and perspectives for the storage of its juice. *J Agric Food Chem*, 48: 5424-5431.
- [22] Felker, P., Soulier, C., Leguizamon, G. & Ochoa, J., 2002. A comparison of the fruit parameters of 12 *Opuntia* clones grown in Argentina and the United States. *J Arid Environ*, 52: 361-370.
- [23] Salim, E., Moore, M.A., Al-Kayed, S. & al., 2009. Cancer epidemiology in the Arab region-past present and future. *Asian Pac J Cancer Prev*, 10: 27-44.
- [24] Stintzing, F.C., Schieber, A. & Carle, R., 2003. Evaluation of color properties and chemical quality parameters of cactus juice. *Eur. Food Res. Technol*, 216(4): 303-311.
- [25] Talía Hernández-Pérez., Armando Carrillo-lopez., Fidel Guevara-Lara., Andrés Cruz-Hernández. & Octavio Paredes- Lopez., 2005. Biochemical and nutritional Characterization of Three Prickly pear Species with Different Ripening Behavior. *Plant*

foods for Human Nutrition, 60:195-200.

[26] Jean Magloire Feugang., Patricia Konarski., Daming Zou., Florian Conrad Stintzing. & Changping Zou., 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*, 11: 2574-2589

[27] El-Kossori R.L., C. Villaume., E. El-Boustani., Y. Sauvaire. & L. Méjean., 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus-indica* sp.). *Plant Foods Hum. Nutr*, 52: 263-270.

[28] Kuti, J.O. & Galloway C.M., 1994. Sugar composition and invertase activity in prickly pear fruit. *Journal of Food Science*, 59: 387-388.

[29] Piga, A., 2004: Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *J Profess Assoc Cactus Dev*, 9-22.

[30] Stintzing F.C., A. Schieber. & R. Carle., 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur Food Res Technol*, 212: 396-407.

[31] Habibi, Y., 2004. Etude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie. Les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique. Thèse de doctorat national.

[32] Askar, A. & El-Samahy S.K., 1981. Chemical composition of prickly pear fruits. *Deutsche. Lebensmittelrundschau*, 77: 279-281.

[33] Sarbojeet Jana., 2012. Nutraceutical and functional properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) and its utilization for food applications. *Journal of Engineering Research and Studies*, E-ISSN0976-7916

[34] Barbera, G., Carimi, F., Inglese, P. & Panno, M., 1992. Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *Journal of Horticultural Science*, 67: 307-312.

[35] Chessa, I. & Nieddu, G. 1997. Descriptors for cactus pear (*Opuntia* spp). *Cactusnet* FAO International Cooperation Network on Cactus Pear, special Newsletter.

[36] PunnaRamulu., Paruchuri Udayasekhara Rao. 2003. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 16: 677-685.

[37] Fernández, M.L., Lin, E.C.K., Trejo, A. & Mcnamara, D.J., 1992. Prickly pear

(*Opuntiasp.*) pectin reverse low-density lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea pigs. *Journal of Nutrition*, 22: 2230-2340.

[38] Trejo, A., Ortiz, G.G., Puebla, A.M., Huizar, M.D., Munguia, M.R., Mejia, S. & Calva, E., 1995. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntiaspp.*) controls experimentally induced diabetes in rats. *Actas VI Congreso Nacional y IV Congreso Internacionalesobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal*, Guadalajara, Mexico: pp. 300-305.

[39] Sáenz, C., Sepúlveda, E., & Matsuhira, B., 2004. *Opuntia spp.* mucilage's: A functional component with industrial perspectives. *J. Arid Environ.*, 57: 275-290.

[40] Qiu, B., Beaudoin, F., Fraser, T., Stobart, A.K., Napier, J.A. & Lazarus, C.M., 2002. Identification of a cDNA encoding a novel C18- Δ 9 polyunsaturated fatty acid-specific elongating activity from the docosahexaenoic acid (DHA)-producing microalga, *Isochrysis galbana*. *FEBS Letters* 510: 159-165.

[41] Sáenz, C., 1995: Food Manufacture and by-products. In: *Agroecology, cultivation and uses of cactus pear*. Eds: Barbera G, Inglese P, Pimienta-Barrios E, FAO Plant Product and Protection Paper, Rome 132, 137-143.

[42] Ramadan, M.F. & Mörsel, J.T., 2003a. Recovered lipids from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] peel: a good source of polyunsaturated fatty acids, natural antioxidant vitamins and sterols. *Food Chemistry*, 83: 447-486.

[43] Ramadan, M.F. & Mörsel, J.T., 2003b. Lipid profile of prickly pear pulp fractions. *Food, Agriculture & Environment*, 1: 66-70.

[44] Ramadan, M.F. & Mörsel, J.T., 2003c. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chemistry*, 82: 339-345.

[45] Coskuner, Y. & Tekin, A. 2003. Monitoring of seed composition of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L) fruits during maturation period. *J Sci Food Agric*, 83: 846-849.

[46] Krifa, M., Villet, A., Krifa, F. & Alary, J., 1993. Prickly pear seed oil. Composition study. *Annales des Falsifications de l'Expertise Chimique et Toxicologique*, 86: 161-74.

[47] Kugler, F., Graneis, S., Schreiter, P., Stintzing, F.C. & Carle, R., 2006.

Determination of free amino compounds in betalainic fruits and vegetables by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4311-4318

[48] Kataoka, H. & Ohnishi, N., 1986. Occurrence of taurine in plants. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50: 1887-1888.

[49] Pasantes-Morales, H., Queseda, O., Alcocer, L. & Sanchez Olea, R., 1989. Taurine content in foods. *Nutrition Reports International*, 40: 793-801.

[50] Pasantes-Morales, H. & Flores, R., 1991. Taurine content of Mexican beans. *Journal of Food Composition and Analysis*, 4: 322-328

[51] Hayes, K.C., Trautwein, E.A. & Shills, M.E., 1994. Parenteral Nutrition. In: Shills, M.E., Olson, J.A., Shike, M. (eds.) *Modern nutrition in health and disease*. 8th edition. Lea & Febiger Malvern, PA. Vol. 1, Chapter, 31: 477-488.

[52] Abd El-Razek, F.H., El-Metwally, E.M., Shehab, G.M., Hassan, A.A. & Gomaa A.M., 2012. Effects of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice on oxidative stress in diabetic cataract rats. *Saudi J Health Sci*, 1: 23-9.

[53] Díaz Medina, E.M., Rodríguez Rodríguez, E.M. & Díaz Romero, C., 2007. Chemical characterization of (*Opuntia dillenii*) and (*Opuntia ficus indica*) fruits. *Food Chem*, 103:38–45.

[54] Atef, A.M., Abou-Zaid, Nadia, I., Ibrahim, Mostafa., Ramadan, T. & Nadir, A., 2013. Quality evaluation of sheets, jam and juice from prickly pear and melon blends. *Life Science Journal*, 10 (2)

[55] Hernández-Urbiola, M.I., Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero 2,3, E., Hernández-Quevedo, G., Rojas-Molina, J.I., Cortes, M.E. & Rodríguez-García, M.E., 2010. Study of Nutritional Composition of Nopal (*Opuntia ficus indica* cv. Redonda) at Different Maturity Stages. *The Open Nutrition Journal*, 4: 1-6.

[56] Silos-Espino, H., Fabian-Morales, L., Osuna-Castro, J.A., Valverde, E., Guevara-Lara, F. & Paredes-López, O. 2003. Chemical and biochemical changes in prickly pears with different ripening behavior. *Nahrung/Food*, 47: 334-338.

[57] Mobhammer, M.R., Stintzing, F.C. & Carle, R., 2005. Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus cacti* and betalain-containing model solutions derived therefrom. *Food Research International*, 38: 975–981.

- [58] Castellar, R., Obon, J.J., Alacid, M. & Fernandez-Lopez, J.A., 2003. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 2772-2776.
- [59] Tesoriere, L., Butera, L., Allegra, M., Fazzari, M. & Livrea, M.A., 2005. Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1266–1270.
- [60] Vasanth Kumar, G., Ajay Kumar, K., Raghu Patel, G.R. & Manjappa, S., 2013. Determination of vitamin C in some fruits and vegetables in Davanagere city, (Karnataka) – India. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACY & LIFE SCIENCES. Int. J. of Pharm. & Life Sci. (IJPLS)*, Vol. 4, Issue 3: March: 2013, 2489-2491 -2489
- [61] Stintzing, F.C., Schieber, A. & Carle, R., 2000. Cactus pear—a promising component to functional food. *ObstGemüse Kartoffelver (Fruit Vegetable Potato Process)*, 85: 40–47.
- [62] María Teresa Sumaya- Martínez., Sandra Cruz-Jaime., Eduardo Madrigal-Santillán., Juan Diego García-Paredes., Raquel Cariño-Cortés., Nelly Cruz-Cansino., Carmen Valadez-Vega., Leonardo Martinez-Cardenas. & Ernesto Alanís-García., 2011. Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Purple, Red, Yellow and White Cactus Pears. *Int. J. Mol. Sci*, 12: 6452-6468;
- [63] Celil Toplu., Sedat Serce., Sezai Ercisli., Onder Kamiloglu. & Memnune Sengul., 2009. Phenotypic variation in physico-chemical properties among cactus pear fruits (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) from Turkey. *Pharmacognosy Magazine*, Vol 5(20): pp 400-406.
- [64] Kuti, J.O., 1992. Shahidi F., P.K. Janitha & P.D. Wanasundara: Phenolic antioxidant a, Critical previous term Reviews next term. *Food Sci Nutr* 32: 67–103.
- [65] Maataoui, B. S., Hmyene, A., & Hilali, S., 2006. Activites Anti-Radicalaires D'extraits De Jus De Fruits Du Figuier De Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). *Lebanese Science Journal*, Vol. 7, No. 1, 2006.
- [66] Morán-Ramos, S., Avila-Nava, A., Tovar, A.R., Pedraza-Chaverri, J., López-

- Romero, P. & Torres N., 2012. *Opuntia ficus indica* (Nopal) Attenuates Hepatic Steatosis and Oxidative Stress in Obese Zucker (fa/fa) Rats. *J. Nutr*, 142(11):1956-1963.
- [67] Medina-Torres., Vernon-Carter, E.J., Gallegos-Infante, J.A, Rocha-Guzman, N.E., Herrera_Valencia, E.E., Calderas, F., & al., 2011. Study of the antioxidant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes after convective drying. *J.Sci.FoodAgric*, 91(6):1001-1005.
- [68] Hegwood, D.A., 1990. Human health discoveries with *Opuntia* sp. (prickly pear). *HortSci*, 25: 1315–1316
- [69] Lee, C.H., Wettasinghe, M., Bolling, B.W., Ji, L.L. & Parkin, K.L., 2005. Betalains, phase-II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Nutrition and Cancer*, 53: 91– 103.
- [70] Stintzing, F.C. & Carle, R., 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *MolNutr Food Res*, 49: 175-194.
- [71] Nefzaoui, A. 1997. Crop livestock integration through better use of feed resources in Tunisia. In: Improvement of croplivestock integration systems in West Asia and North Africa. Proceedings of the regional symposium on integrated crop-livestock systems in the dry areas of West Asia and North Africa. Eds: Haddad N, Tutwiler R, Thomson E, ICARDA, Amman, Jordan.
- [72] Gillet, T., 1990. Bresil: les chevres de la caatinga. *Chevre*, 178: 40–46.
- [73] Nefzaoui, A. & Ben Salem, H., 2002. Forage, fodder, and animal nutrition. In: *Cacti. Biology and Uses*. Eds: Nobel PS, University of California Press, Berkeley, 199-210.
- [74] Gurbachan, S. & Felker, P., 1998. Cactus: new world foods. *Indian Horticulture*, 43: 29–31.
- [75] Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A.M., Kohen, R. & Livrea, M.A., 2002. Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. *J Agric Food Chem*, 50: 6895–6901.
- [76] Rice-Evans, C. A. & Miller, N. J., 1985. Antioxidants: the case of fruit and vegetables in the diet. *Br Food J*, 97: 35-40.

- [77] Donaldson, M.S. 2004. Nutrition and cancer: A review of the evidence for an anti-cancer Diet. *Nutr J* 3.
- [78] Zou, D., Brewer, M., Garcia, F. & al., 2005. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal*, 4: 25.
- [79] Fernandez-Lopez, J. A., Almela, L., 2001. Application of High-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Journal of Chromatography*, 913: 415-420.
- [80] Supino, R., Crosti, M., Clerici, M., Warlters, A., Cleris, L., Zunino, F. & Formelli, F., 1996. Induction of apoptosis by Fenretinide (4-HPR) in human ovarian carcinoma cells and its association with retinoic acid receptor expression. *Int J Cancer*, 65: 491–497.
- [81] De Palo, G., Mariani, L., Camerini, T., Marubini, E., Formelli, F., Pasini, B., Decensi, A. & Veronesi, U., 2002. Effect of fenretinide on ovarian carcinoma occurrence. *GynecolOncol*, 86: 24–27.
- [82] Steinmetz, K.A. & Potter, J.D., 1996. Vegetables, Fruit, and Cancer Prevention: A Review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 96: 1027-1039.
- [83] Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A.M., Allegra, M. & Livrea, M.A., 2004. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *Am J ClinNutri*, 80: 391-395.
- [84] Tesoriere, L., Butera, D., D'Arpa, D. & al., 2003. Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. *Free Radical Research*, 37: 689–696.
- [85] Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, M.A. & D'Alessio, P., 2004. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Signal Transduction and Communication in Cancer Cells*, 1028, 481–486.
- [86] Psomiadou, E. & Tsimidou, M., 2001. Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. *J Sci Food Agric*, 81: 640–647.
- [87] Siriwardhana, N., & Jeon, Y.J., 2004. Antioxidative effect of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica*) extract on lipid peroxidation inhibition in oils and emulsion model systems. *Eur Food Res Technol*, 219: 369-376.
- [88] Dok-Go, H., Lee, K.H., Kim, H.J., Lee, E.H., Lee, J., Song, Y.S., Lee, Y.-H., Jin,

- C., Lee, Y.S. & Cho, J., 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+) dihydro quercetin and quercetin 3-methylether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Brain Res*, 965: 130-136.
- [89] Carbo, N., Costelli, P., Baccino, F.M., LopezSoriano, F.J. & Argiles, J.M., 1999. Resveratrol, a natural product present in wine, decreases tumour growth in a rat tumour model. *BiochemBiophys Res Commun*, 254: 739–743.
- [90] Tapiero, H., Tew, K.D., Ba, G.N. & Mathe, G., 2002. Polyphenols: Do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed Pharmacother* ,56: 200–207.
- [91] Ahmad, A., Davies, J., Randall, S., & Skinner, G.R.B., 1996. Antiviral properties of extract of *Opuntias treptacantha*. *Antiviral Research*, 30: 75-85.
- [92] Loro, J.F., del Rio, I. & Pérez-Santana, L., 1999. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. *J Ethno pharmacol*, 67: 213-218.
- [93] Galati, E.M., Monforte, M.T., Tripodo, M.M., d'Aquino, A. & Mondello, M.R., 2001. Antiulcer activity of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. *J Ethnopharmacol*, 76: 1–9.
- [94] Park, E.H., Kahng, J.H., Lee, S.H. & Shin, K.H., 2001.: An anti-inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia* ,72: 288-90.
- [95] Lee, E.B., Hyun, J.E., Li, D.W. & Moon, Y.I., 2001. The effect of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* fruit on gastric lesion and ulcer in rats. *Nat Prod Sci* ,7: 90-93.
- [96] Lee, B., Hyun, J.E., Li, D.W. & Moon, Y.I., 2002. Effects of *Opuntia ficus-indica* var. *Saboten* stem on gastric damages in rats. *Arch Pharm Res*, 25: 67–70.
- [97] Allegra, M., Furtmuller, P.G., Jantschko, W., Zederbauer, M., Tesoriere, L., Livrea, M.A. & Obinger, C., 2005. Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 332: 837-844.
- [98] Domínguez López, A., 1995. Use of the fruits and stems of the prickly pear cactus (*Opuntia* spp.) into human food. *Food Sci Technol Int*, 1: 65–69.
- [99] Cicero, A.F.G., Derosa, G., & Gaddi, A., 2004. What do herbalists suggest to diabetic patients in order to improve glycemic control? Evaluation of scientific evidence and potential risks. *Acta Diabetologica*, 41: 91-98.
- [100] Ibanez-Camacho R. & R. Roman-Ramos: Hypoglycemic effect of *Opuntia* cactus.

Arch Invest Med (Mex) 10, 223–230 (1979)

[101] Trejo-Gonzalez, A., Gabriel-Ortiz, G., Puebla-Perez, A.M., & al., 1996. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats. *J Ethnopharmacol*, 55: 27–33.

[102] Ennouri, M., Fetoui, H., Bourret, E., Zeghal, N. & Attia H., 2005. Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. 1. Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresour Technol*.

[103] Gurbachan, S. & Felker, P., 1998. Cactus: new world foods. *Indian Horticulture*, 43: 29–31.

[104] Fernandez, M.L., Lin, E.C., Trejo, A. & McNamara, D.J., 1992. Prickly pear (*Opuntia* sp.) pectin reverses low density lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea pigs. *J Nutr*, 122: 2330–2340.

[105] Frati, A.C., 1992. Medical implication of prickly pear cactus. In: Proc. 3rd Annual Texas prickly pear council. Eds: Felker P., Moss, L.R., 24-25 July, Kingsville, Texas, 29-34.

[106] Galati, E.M., Tripodo, M.M., Trovato, A., d'Aquino, A. & Monforte, M.T., 2003. Biological activity of *Opuntia ficus indica* cladodes II: Effect on experimental hypercholesterolemia in rats. *Pharm Biology*, 41 (3): 175-179.

[107] Lee, S.-P., Lee, S.-K. & Ha, Y.-D., 2000. Alcohol fermentation of *Opuntia ficus* fruit juice. *J Food Sci Nutr*, 5: 32-36.

[108] Galati, E.M., Tripodo, M.M., Trovato, A., Miceli, N. & Monforte, M.T., 2002. Biological effects of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter. Note I: diuretic activity. *J Ethnopharmacol*, 79: 17-21.

[109] Jonas, A., Rosenblat, G., Krapf, D., Bitterman, W. & Neeman, I., 1998. Cactus flower extracts may prove beneficial in benign prostatic hyperplasia due to inhibition of 5 alpha reductase activity, aromatase activity and lipid peroxidation. *Urol Res*, 26: 265-270.

[110] Galati, E. M., Mondello, M. R., Lauriano, E. R., Taviano, M. F., Galluzzo, M. & Miceli, N. 2005. *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Fruit Juice Protects Liver from Carbon Tetrachloride induced Injury. *Phytother Res*, 19: 796–800.

- [111] Sáenz, C.H., 2000. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *J Arid Environ*, 46: 209-225.
- [112] Warschkow, S. & Warschskow, K. 1994. Hair loss treatment and hair growth promoter – comprises drink and hair gel containing cold pressed juice of meristematic tissue of cacti plants and pampa grass. DE Patent 43331252.
- [113] Sáenz-Hernandez, C., Corrales-Garcia, J. & Aquino Perez, G., 2002. Nopalitos, mucilage, fiber, & cochineal. In: *Cacti. Biology and Uses*. Eds: Nobel PS, University of California Press, Berkeley, Los Angeles, 211-234.
- [114] Moreno, P.R. & Flores, C.F., 1996. The world cactus pear market. *J Profess Assoc Cactus Dev*, 1: 75–86.
- [115] Basile, F., 2001. Economic aspects of Italian cactus pear production and market. *J Profess Assoc Cactus Dev*, 4: 31–49.
- [116] Sáenz, A.M., Estévez, E., Sepúlveda, E. & Mecklenburg, P., 1998. Cactus pear fruit: A new source for a natural sweetener. *Plant Foods Human Nutr*, 52: 141-149.
- [117] Turker, N., Coskuner, y., Ekiz-Hi Aksay, S. & Karababa, E., 2001. The effect of fermentation on the thermostability of the yellow-orange pigments extracted from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Eur Food Res Technol*, 212: 213– 216.
- [118] Hadj Sadok, T., Aid, F., Bellal, M. & Maria Stela Abdul Hussain, 2008. Composition Chimique Des Jeunes Cladodes D'*Opuntia Ficus Indica* Et Possibilites De Valorisation Alimentaire. *Agricultura – Știință și practică*. nr. 1-2 (65-66).
- [119] El Mannoubi, I., Barrek, S., Skanji, T., Casablanca, H., & Zarrouk, H. 2009. Characterization of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tunisia. *Chemistry of natural compounds*, Vol. 45. No. 5.2009.
- [120] Sepúlveda, E. & Sáenz, C., 1988. Prickly pear processing (*Opuntia ficus-indica*) I. Seed oil. *Alimentos*, 13: 35-38.
- [121] Feugang, J.M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F.C. & Zou, C., 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*, 11: 2574–2589.
- [122] Matsuhiro, B., Lillo, L., Sáenz, C., Urzuá, C. & Zárata, O., 2006. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*. *Carbohydrate Polymer*, 63: 263–267.
- [123] Downham, A. & Collins, P., 2000. Colouring our foods in the last and next

- millennium. *International Journal of Food Science and Technology*, 35: 5–22.
- [124] Fletcher, A., 2006. Lycopene colorant achieves regulatory approval. Available at: <http://www.foodnavigator.com/news/ng.asp?n=64939-lycored-lycopene-colour>
- [125] Henriette M.C.Azeredo., 2009. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2365–2376
- [126] Kevin M. Davies, 2004. PLANT PIGMENTS AND THEIR MANIPULATION *Annual Plant Reviews*, Volume 14. ISSN 1460–1494
- [127] Wyler, H. & Dreiding, A.S., 1961. Über Betacyane, die Stickstoffhaltigen Farbstoffe der Centrospermen -Vorläufige Mitteilung. *Experientia*, 17: 23-25.
- [128] Wyler, H., Mabry, T.J. & Dreiding, A.S., 1963. Zur Struktur des Betanidins. *Helvetica Chimica Acta*, 46: 188-189.
- [129] Wilcox, M.E., Wyler, H. & Dreiding, A.S., 1965. Stereochemie von betanidin und isobetanidin. *Helvetica Chimica Acta*, 48: 1134-1147.
- [130] Strack, D., Vogt, T. & Schliemann, W., 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62: 247–269.
- [131] Stintzing, F.C., Conrad, J., Klaiber, I., Beifuss, U. & Carle, R. 2004. Structural investigations on betacyanin pigments by LC NMR and 2D NMR spectroscopy. *Phytochemistry*, 65: 415– 422.
- [132] Cai, Y., Sun, M. & Corke, H., 1998. Colourant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4491–4495.
- [133] Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R. & Paredes-Lopez, O., 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40: 173–289.
- [134] Castellar, M.R., Obon, J.M. & Fernandez-Lopez, J.A., 2006. The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 122–128.
- [135] Cerezal, M.P., Pino, A. J. & Salabarría, Y., 1994. Red beet (*Beta vulgaris* L.) colourant stability in the form of a concentrated liquor. *Tecnología Alimentaria*, 29: 7–16.
- [136] Cai, Y. & Corke, H., 1999. *Amaranthus* betacyanin pigments applied in model

- food systems. *Journal of Food Science*, 64: 869–873.
- [137] Stafford, H.A., 1994. Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. *Plant Science*, 101: 91–98.
- [138] Stintzing, F.C., Schieber, A. & Carle, R., 2002b. Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2302–2307.
- [139] Kugler, F., Stintzing, F.C. & Carle, R., 2004. Identification of betalains from petioles of differently coloured Swiss chard (*Beta vulgaris* L. ssp. *cicla* [L.] Alef. cv. Bright Lights) by high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 2975–2981.
- [140] Vaillant, F., Perez, A., Davila, I., Dornier, M. & Reynes, M., 2005. Colourant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.) *Fruits*, 60: 1–10.
- [141] Nilsson, T., 1970. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). *Lantbrukshögskolans Annaler*, 36: 179–219.
- [142] Von Elbe, J.H., 1975. Stability of betalains as food colors. *Food Technology*, 5: 42–44.
- [143] Lu, G., Edwards, C.G., Fellman, J.K., Mattinson, D.S. & Navazio, J., 2003. Biosynthetic origin of geosmin in red beets (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1026–1029.
- [144] Mizrahi, Y., Nerd, A. & Nobel, P.S., 1997. Cacti as crops. *Horticultural Reviews*, 18: 291–320.
- [145] Stintzing, F.C., Kugler, F., Carle, R. & Conrad, J., 2006. First ¹³C-NMR assignments of betaxanthins. *Helvetica Chimica Acta*, 89: 1008–1016.
- [146] Leathers, R.R., Davin, C. & Zryd, J.P., 1992. Betalain producing cell cultures of *Beta vulgaris* L. Var. *Bikores Monogerm* (red beet). *In vitro Cellular & Developmental Biology*, 28: 39–45.
- [147] Akita, T., Hina, Y. & Nishi, T., 2000. Production of betacyanins by a cell suspension culture of table beet (*Beta vulgaris* L.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64: 1807–1812.
- [148] Jimenez-Aparicio, A. & Gutierrez-Lopez, G., 1999. Production of food related colourants by culture of plant cells. The case of betalains. *Advances in Experimental*

Medicine and Biology, 464: 195–210.

[149] García Barrera, F.A., Reynoso, C.R. & Gonzalez de Mejia, E., 1998. Estabilidad de las betalainas extraídas del gárgambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Food Science and Technology International, 4: 115–120.

[150] Schliemann, W., Kobayashi, N. & Strack, D., 1999. The decisive step in betaxanthin biosynthesis is a spontaneous reaction. Plant Physiology, 119: 1217–1232.

[151] Wiley, R.C. & Lee, Y.N., 1978. Recovery of betalaines from red beets by a diffusion-extraction procedure. Journal of Food Science, 43: 1056–1058.

[152] Lee, Y.N. & Wiley, R.C., 1981. Betalaine yield from a continuous solid-liquid extraction system as influenced by raw product, post-harvest and processing variables. Journal of Food Science, 46: 421–424.

[153] Lee, Y.N., Wiley, R.C., Sheu, M.J. & Schlimme, D.V., 1982. Purification and concentration of betalaines by ultrafiltration and reverse osmosis. Journal of Food Science, 47: 465–471.

[154] Bayindirli, A., Yildiz, F. & Ozilgen, M., 1988. Modeling of sequential batch ultrafiltration of red beet extract. Journal of Food Science, 53: 1418–1422.

[155] Real, S.E. & Cerezal, M.P., 1995. Estudio de los parámetros de operación en la ultrafiltración del jugo de remolacha para colorante. *La Alimentación Latinoamericana*, 206 : 34–40.

[156] Strack, D., Steglich, W. & Wray, V., 1993. Betalains. In: *Methods in Plant Biochemistry*, v. 8 (edited by P.M. Dey, J.B. Harborne & P.G. Waterman). pp. 421–450. Orlando: Academic Press.

[157] Wybraniec, S., Nowak-Wydra, B. & Mizrahi, Y., 2006. ¹H and ¹³C-NMR spectroscopic structural elucidation of new decarboxylated betacyanins. *Tetrahedron Letters*, 47: 1725–1728.

[158] Sapers, G.M. & Hornstein, J.S., 1979. Varietal differences in colorant properties and stability of red beet pigments. *Journal of Food Science*, 44: 1245–1248.

[159] Singer, J.W. & von Elbe, J.H., 1980. Degradation rates of vulgaxanthine I. *Journal of Food Science*, 45: 489–491.

[160] Herbach, K.M., Stintzing, F.C. & Carle, R., 2004a. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science*, 69: C491–C498.

- [161] Huang, A.S. & von Elbe, J.H., 1985. Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science*, 50: 1115–1120.
- [162] Huang, A.S. & von Elbe, J.H., 1986. Stability comparison of two betacyanine pigments – amaranthine and betanine. *Journal of Food Science*, 51: 670–674.
- [163] Reynoso, R., Garcia, F.A., Morales, D. & Ganzalez De Mejia, E., 1997. Stability of Betalain Pigments from a Cactacea Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2884-2889.
- [164] Heuer, S., Richter, S., Metzger, J.W., Wray, V., Nimtz, M. & Strack, D., 1994. Betacyanins from bracts of *Bougainvillea glabra*. *Phytochemistry*, 37: 761–767.
- [165] Schliemann, W. & Strack, D., 1998. Intramolecular stabilization of acylatedbetacyanins. *Phytochemistry*, 49: 585–588.
- [166] Huang, A.S. & von Elbe, J.H. (1987). Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science*, 52, 1689– 1693.
- [167] Havli'kova', L., Mikova, K. & Kyzlink, V., 1983. Heat stability of betacyanins. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung*, 177: 247–250.
- [168] Altamirano, R.C., Drdak, M., Simon, P., Smelik, A. & Simko, P., 1992. Stability of red beet pigment concentrate in maize starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58: 595–596.
- [169] Han, D., Kim, S.J. & Kim, D.M., 1998. Repeated regeneration of degraded red beet juice pigments in the presence of antioxidants. *Journal of Food Science*, 63, 69–72.
- [170] Attoe, E.L. & von Elbe, J.H., 1982. Degradation kinetics of betaninein solutions as influenced by oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30: 708–712.
- [171] Drunkler, D.A., Fett, R. & Bordignon-Luiz, M.T., 2006. AvaliacaO da estabilidade de betalainas em extrato de beterraba (*Beta vulgaris*L.) com a-, b-ec-ciclodextrinas. *Boletim Centro de Pesquisa deProcessamento de Alimentos*, 24: 259–276.
- [172] Von Elbe, J.H., Maing, I. & Amundson, C.H., 1974. Colour stability of betanin. *Journal of Food Science*, 39: 334–337.
- [173] Attoe, E.L. & von Elbe, J.H., 1981. Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. *Journal of Food Science*, 46: 1934–1937.
- [174] Pasch, J.H. & von Elbe, J.H., 1979. Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants. *Journal of Food*

Science, 44: 72–74.

[175] Attoe, E.L. & von Elbe, J.H., 1984. Oxygen involvement in betanin degradation. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und – Forschung A*, 179: 232–236.

[176] Moßhammer, M.R., Maier, C., Stintzing, F.C. & Carle, R., 2006. Impact of thermal treatment and storage on color of yellow-orange cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) [L.] Mill. Cv. ‘Gialla’) Juices. *Journal of Food Science*, 71(7): 400-406.

[177] Czapski, J., 1990. Heat stability of betacyanins in red beet juice and in betanin solutions. *European Food Research and Technology*, 191: 275–278.

[178] Sobkowska, E., Czapski, J. & Kaczmarek, R., 1991. Red table beet pigment as food colorant. *International Food Ingredients*, 3:24-28.

[179] Savolainen, K. & Kuusi, T., 1978. The stability properties of golden beet and red beet pigments: influence of pH, temperature, and some stabilizers. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 166: 19–22.

[180] Herbach, K.M., Rohe, M., Stintzing, F.C. & Carle, R., 2006a. Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. *Food Research International*, 39: 667–677.

[181] Mariássyová, M. & Silhár, S., 2000. Conversion of betalains in the presence of antioxidants. *Czech Journal of Food Sciences*, 18: 220– 221.

[182] Bilyk, A., & Howard, M., 1982. Reversibility of thermal-degradation of betacyanines under the influence of isoascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(5): 906–908.

[183] Daeseok, H., Seok, J.K., Sang, H.K., Dong, M.K., 1998. Repeated Regeneration of Degraded Red Beet Juice Pigments in the Presence of Antioxidants. *Journal of Food Science*, 63: 69-72.

[184] Saguy, I., Kopelman, I.J. & Mizrahi, S., 1978. Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26: 360–362.

[185] Herbach, K.M., Stintzing, F.C. & Carle, R., 2004b. Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton and Rose) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology*, 219: 377–385.

- [186] Drdák, M. & Vallová, M., 1990. Kinetics of the thermal degradation of betanin. *Die Nahrung*, 34: 307–310.
- [187] Harivaindaran, K.V., Rebecca O.P.S. & Chandran, S., 2008. Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. *Pak. J. Biol. Sci*, 11(18): 2259-2263.
- [188] Coskuner, Y., Turker, N., Ekiz, H.I., Aksay, S. & Karababa, E., 2000. Effect of pH and temperature on the thermostability of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) yellow-orange pigments. *Nahrung*, 44: 261-263.
- [189] Moßhammer, M.R., Rohe, M., Stintzing, F.C., & Carle, R., 2006b. Stability of yellow-orange cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. cv. 'Gialla') betalains as affected by the juice matrix and selected food additives. *European Food Research and Technology*: in press.
- [190] Kanner, J., Harel, S. & Granit, R., 2001. Betalains - a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5178–5185.
- [191] Escribano, J., Pedrño, M.A., García-Carmona, F. & Muñoz, R., 1998: Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochemical Analysis*, 9: 124–127.
- [192] Kujala, T., Lojonen, J. & Pihlaja, K., 2001. Betalains and phenolics in red beetroot (*Beta vulgaris*) peel extracts: extraction and characterization. *Zeitschrift für Naturforschung*, 56c: 343–348.
- [193] Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Koleva, I. & Ilieva, M., 2002. Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures. *Zeitschrift für Naturforschung*, 57c: 640–644.
- [194] Wettasinghe, M., Bolling, B., Plhak L., Xiao, H. & Parkin K., 2002. Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *J. Agric. Food Chem*, 50: 6704-6707.
- [195] Cai, Y., Sun M. & Corke, H., 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem*. 51, 2288- 2294.
- [196] Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A.M., Allegra, M. & Livrea, M.A., 2004b. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80: 391–395.

- [197] Louvet, F. & Delplanque, L., 2006. Design of experiments : the French touch / Les plans d'expériences : une approche pragmatique et illustrée", témoignage de l'association Expérimentique, 2006.
- [198] Benoist, D., Tourbier, Y. & Germain-Tourbier, S., 1994 Plan d'expériences : Construction et analyse. Lavoisier TEC & DOC.
- [199] Goupy, J., 1999. Plan d'expériences pour surface de réponse, Dunod,
- [200] Myers, R.H. & Montgomery, D.C., 1995. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. New York: John Wiley & Sons, 244–264.
- [201] Khuri A.L. & Cornell J.A., 1996. Response surface, Designs and Analyses, Marcel Dekker, seconde edition.
- [202] Box, G. E. P. & Behnken, D. W., 1960. Some new three level designs for the study of quantitative variables, *Technometrics*, **2**: 455–475.
- [203] Goupy, J., 2005a. Les phases de construction d'un plan d'expériences, in Pratiquer les plans d'expériences. Dunod, Paris, 11-28
- [204] Cardot, H., Mas, A. & Sarda, P., 2007. CLT in Functional Linear Regression Models, *Probability Theory and Related Fields*, 138: 325-361.
- [205] Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, A., Nystrom, J., .Pettersen. & Bergman, R., 1998. Experimental design and optimization, *Chemometrics and intelligent laboratory systems* 42.
- [206] Ozil P., 1993. Le logiciel ECHIP, De l'élaboration des plans d'expériences à l'interprétation des modèles, Ecole Nationale Supérieure d'Electrochimie et d'électrometallurgie.
- [207] Goupy J., 2005b. Les phases de l'interprétation des résultats d'un plan d'expériences, in Pratiquer les plans d'expériences. Dunod, Paris, 29-52.
- [208]
- [209] Tateo, F., 1978. Analisi dei Prodotti Alimentari; ChiriottiEditori: Pinerolo (TO), Italy.
- [210] Browne, C.A. & Zerban, F.W., 1955. Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis, In J. Wiley and Sons (ed.), New York.
- [211] Lee, S., Prosky, L., & De Vries, J., 1992. Determination of total, soluble, and

insoluble dietary fiber in foods: Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 75: 395–416

[212] Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding, *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.

[213] Osborne, D.R. & Voogt, P., 1978. *The analysis of nutrients in foods*. Academic Press, New York, USA, 49-51.

[214] Yermakov, A.I., Arasimov, V.V. & Yarosh, N.P., 1987: *Methods of biochemical analysis of plants*. Leningrad: Agropromizdat, pp. 122-142 (in Russian).

[215] Singleton V. L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R.M., 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol*, 152-177.

[216] Wolfe, K.; Wu, X.; & Liu, R. H. (2003). Antioxidant Activity of Apple Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 609–614.

[217] Zhishen, J., Mengcheng, T. & Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-559.

[218] Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A. & Da Cunha, A. P., 2003. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3): 742–745.

[219] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & RiceEvans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: (9–10), 1231–1237.

[220] Tilaoui, M., Mouse, H.A., Jaafari, A., Aboufatima, A., Chait., A, Ziyad, A., 2011. Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from aerial parts of a medicinal herb *artemisia herba-alba*. *Rev Bras Farmacogn* 21: 781-785.

[221] Tilaoui, M., Mouse, H.A., Jaafari, A, Ziyad, A., 2014. Differential Effect of Artemisinin Against Cancer Cell Lines. *Nat Prod Bioprospecting* 4; 189-196. Doi:10.1007/s13659-014-0024-4.

- [222] Alfredo Cassano, Carmela Conidi, Enrico Drioli., 2010. Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. *Desalination* 250: 1101–1104
- [223] Savolainen, K., Pyysalo, H., Kallio, H., 1978. The influence of water activity on the stability of vulgaxanthin I. *Z. LebensmUntersFirsch*, 167: 250-251.
- [224] Ledwaba, C.R, Mmbi, N.E, Maphahla, V.V, Ngwepe, M.R & Dikgwatlhe S.B. 2012. Comparison of fruit quality characteristics of 24 cactus pear cultivars with different pulp colours at Mara ADC, Limpopo. Department of agriculture
- [225] Ersan Karababa, Yalçın Coskuner & Salih Aksay, 2004. Some Physical Fruit Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp) That Grow Wild in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *J. of Professional Association of Cactus Development*, 1-8.
- [226] Pimienta, B.E., 1994. Prickly pear (*Opuntia* spp), a valuable fruit crop for the semi arid lands of Mexico. *Journal of Arid Environment*, 28: 1-11.
- [227] Sáenz, C. & Sepúlveda, E., 1999. Physical, chemical and sensory characteristics of juices from pomegranate and purple cactus pear fruit. *Annals of the 22nd IFU Symposium, Paris, France*: pp. 91-100.
- [228] Berat Duru & Nuzhet Turker, 2005. Changes in Physical Properties and Chemical Composition of Cactus Pear (*Opuntia Ficus-Indica*) During Maturation. *J. PACD*.
- [229] El-Samahy, S., Abd El-Hady, E., Habiba, R. & Moussa, T., 2006B. Chemical and rheological characteristics of orange-yellow cactuspear pulp from Egypt. *JOURNAL OF THE Professional Association for Cactus Development*, 8: 39-51.
- [230] Sawaya, W. N., Khalil, J. K. & AL-Mohammad, M. M., 1983. Nutritive value of prickly pear seeds, *Opuntia ficus indica*. *Plant foods human nutr*, 33: 91–97
- [231] Sáenz, C. & Sepúlveda, E., 2001. Cactus-pear juices. *J ProfessAssoc Cactus Dev* 4: 3-10.
- [232] Barroca, M. J., Guiné, R. P. F., Pinto, A., Gonçalves, F. M. & Ferreira, D. M. S., 2006. Chemical and Microbiological Characterization of Portuguese Varieties of Pears. *Food and Bioproducts Processing*, 84: 109-113.
- [233] Rodriguez, S., Orphee, C., Macias, S., Generoso, S. & Gomes GarcmHa, L., 1996. Tuna: Propiedades físico-químicas de dos variedades. *La Alimentacion*

Latinoamericana, 210: 34–37.

[234] Sáenz, C., Sepúlveda, E.y. & Moreno, M., 1995a. Characteristics of purple cactus pear pulp. XI National Congress of Food Science and Technology. 15-17 Oct. (Vina del Mar, chile)

[235] Chavez-Santoscoy, R. A., Gutierrez-Uribe, J. A. & Serna-Saldívar, S. O., 2009. Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and In Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Nine Prickly Pear (*Opuntia* spp.) Juices. *Plant Foods Hum Nutr*, 64: 146–152.

[236] Pulido, R., Bravo, L., Saura-Calixto, F., 2000. Antioxidant activities of dietary phenols are determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem*, 48: 3396-3402.

[237] Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B. D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural Food & Chemistry*, 46: 4113–4117.

[238] Joana Margarida de Andrade Poejo, 2011. Evaluation of *Opuntia* spp. bioactive products as promising natural chemotherapeutical agents- an in vitro approach. Dissertation to obtain a Master Degree in Biotechnology

[239] Sreekanth, D., Arunasree, M. K., Roy, K. R., Chandramohan Reddy, T., Reddy, G. V. & Reddanna, P., 2007. Betanin a Betacyanin Pigment Purified from Fruits of *Opuntia Ficus-Indica* Induces Apoptosis in Human Chronic Myeloid Leukemia Cell Line-K562.'. *Phytomedicine* Vol. 14, 739-46.

[240] Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W. & Corke, H., 2001. Chemical Stability and Colorant Properties of Betaxanthin Pigments from *Celosia argentea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4429-4435.

[241] Montefiori, d. 1990. Ricerchesul l'estrazione, la stabilita e l'impiego dei pigmentidelfigo d'india sanguine. Tesi di lanrea, Universitadegli studi di Milano, Italie.

[242] Moßhammer, Markus R., Michael Rohe , Stintzing, Florian C. & Reinhold, Carle., 2007. Stability of yellow-orange cactus pear (*Opuntiaficus-indica* [L.] Mill. cv. 'Gialla') betalains as affected by the juice matrix and selected food additives. *European Food Research and Technology*, 225: 21–32

[243] Chang, S.F, Hsieh, C.L. & Yen, G.C., 2008. The protective effect of *Opuntiadillenii* Haw fruit against low-density lipoprotein peroxidation and its active

compounds. *Food Chem* 106: 569–575.

[244] Chen, C.W. & Ho, C.-T., Antioxidant properties of polyphenols extracted green and black teas. *J. Food Lipids*, 1995, 2, 35–46.

[245] Lee, H., 1995. Shareholder Wealth Effects of New Product Rivalry: First Movers, Second Movers, and Laggards,” University of Maryland, Ph.D. Thesis.

[246] Federica Pellati, Stefania Benvenuti, Lara Magro, Michele Melegari & Fabrizia Soragni., 2004. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of *Echinacea* spp. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35: 289–301.

[247] María Teresa Sumaya-Martínez , Sandra Cruz-Jaime, Eduardo Madrigal-Santillán, Juan Diego García-Paredes, Raquel Cariño-Cortés, Nelly Cruz-Cansino ,Carmen Valadez-Vega, Leonardo Martinez-Cardenas & Ernesto Alanís-García. 2011. Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Purple, Red, Yellow and White Cactus Pears. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 6452-6468;

[248] Jose, J., Pradhan, G. B., Deshmukh, P.C., Radojevic, V. & Manson, S.T., 2010. Correlation and relaxation effects near threshold: The Ar isoelectronic sequence. *Bull. Am.Phys. Soc.* 55 (5): 158.

[249] García-Ochoa, F., Santos , V., Fritsch, A., 1992. Nutritional study of *Xanthomonas campestris* in xanthan gum production by factoria design of experiments. *Enzyme Microbial. Technol*, 14(12): 991-996.

[250] Casas, J. A. & Garcia-Ochoa, F., 1999. Viscosity of solutions of xanthan/ locust bean gum mixtures. *Journal of Scientific Food Agriculture*, 79: 25–31.

[251] Kök, F.N., Wilkins, R.M., Cain, R.B., Arica, M.Y., Alaeddinoglu,G. & Hasirci. V., 1999. Controlled release of aldicarb from lignin loaded ionotropehydrogel microspheres. *J. Microencapsul*, 16: 613-623.

[252] Trachtenberg, S. & Mayer, A.M., 1982. Biophysical property of *Opuntia ficusindica* mucilage. *Phytochemistry*, 21: 2835–2943.