



## Caractérisation physicochimique de l'huile de *Opuntia ficus indica* (L.) de la Tunisie et évaluation de ses activités anti-oxydante, antibactérienne et cytotoxique

Sana Bardaa<sup>1\*</sup>, Fatma Aloui<sup>2</sup>, Riadh Ben Mansour<sup>3</sup>, Hazem Jabeur<sup>4</sup>, Mohamed Bouaziz<sup>4</sup> et Zouheir Sahnoun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Pharmacologie. Faculté de Médecine de Sfax-Tunisie.

<sup>2</sup>Laboratoire de Biochimie et de Génie Enzymatique des Lipases. Ecole Nationale d'Ingénieurs - Sfax. Tunisie.

<sup>3</sup>Laboratoire de Culture Cellulaire. Institut de Biotechnologie de Sfax. Tunisie.

<sup>4</sup>Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax. Tunisie.

\* Auteur de correspondance : [sanabardaa@gmail.com](mailto:sanabardaa@gmail.com)

Received 17 January 2022; Revised 15 February 2022; Accepted 30 April 2022

### Résumé

Depuis quelques années, l'utilisation des huiles végétales en biomédical est en plein essor. Toutefois, la connaissance de leurs caractéristiques physico-chimiques et leurs activités biologiques demeure indispensable pour une meilleure valorisation de l'huile.

Dans ce cadre, notre étude vise à caractériser l'huile de *Opuntia ficus indica* (figue de barbarie) d'origine tunisienne de points de vue physicochimiques et biologiques. L'huile de figue de barbarie extraite par presse à froid était de couleur jaune claire, stable et de bonne qualité ayant un indice de peroxyde et une extinction spécifique faibles. Cette huile a révélé une richesse en acides gras insaturés, avec un profil de type linoléique-oléique. L'acide linoléique (55,731 %) est détecté comme l'acide gras principal, suivi des acides oléique (20,788 %). La fraction stérolique et en particulier le  $\beta$ -Sitostérol était fortement présent dans l'huile de figue de barbarie qui comporte, par ailleurs, une forte teneur en  $\alpha$ -tocophérol (602 ppm) et une faible teneur en phénol totaux (23,98 ppm).

L'huile de figue de barbarie semble avoir une activité antibactérienne modérée.

A travers le test de blanchissement du  $\beta$ -carotène, l'huile de figue de barbarie présentait une activité anti-oxydante significativement plus élevée que celle du produit de référence (BHT). Cette capacité anti-oxydante peut être attribuée essentiellement à sa richesse en tocophérols.

D'après le test MTT, l'huile de figue de barbarie semble être exempte de toute toxicité et pourrait être utilisée dans la dermatopharmacie.

**Mots Clés** : huile de figue de barbarie, caractérisation physicochimique, antioxydant, antibactérien, cytotoxicité.

## Abstract

Today, the emerging potential of *Opuntia ficus indica* (L.) (Prickly pear) oil application in pharmaceutical and cosmetic industries has prompted researchers to study its stability and to determine its compounds in order to improve its economic utility.

In this context, the utmost aim of the current research was to assess the physicochemical properties of *Opuntia ficus indica* L extracted oil from Tunisia and to appraise its antimicrobial activity and its cytotoxic activity against HeLa cell lines.

The prickly pear oil was analysed for antimicrobial activity by disc diffusion assay and minimum inhibition concentration against four bacteria. The oil was also tested for the DPPH free-radical scavenging activity and cytotoxicity.

Prickly pear oil extracted by cold press was light yellow in colour, stable and had good quality with low peroxide value.

Linoleic acid (55.731 %), oleic acid (20.788 %) and  $\beta$ -sitosterol were the most prominent in prickly pear extracted seed oil. The oil showed moderate antibacterial activity when compared to the reference (gentamicin). The oil recorded highest anti-bacteria activities against *Bacillus subtilis*. It exhibited remarkable antioxidant property due its richness of  $\alpha$ -tocopherol.

According to the MTT test, prickly pear oil seems to be free of any toxicity and could be used in dermopharmacy.

**Keywords:** *Opuntia ficus indica* oil, physicochemical characterization, antioxidant, antibacterial, cytotoxicity.

## 1. Introduction

De nos jours, l'industrie pharmaceutique moderne et cosmétique s'inspire largement des plantes médicinales et des composés bioactifs végétaux. La flore tunisienne est caractérisée par une large biodiversité ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle et la médecine une richesse inestimable. Une de ces sources les huiles naturelles qui sont considérées comme une source de matières premières recherchées en biomédical. De ce fait, la caractérisation des composés responsables de l'effet phytothérapeutique demeure une tâche intéressante et utile. Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés aux caractérisations physicochimique et biologique de l'huile de *Opuntia ficus indica* L. (figue de barbarie) d'origine tunisienne.

Le figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) est une plante arborescente formée de larges coussinets aplatis, appelés raquettes ou cladodes, parsemés d'épines. Le fruit, charnu est une baie épineuse (figue de barbarie) renfermant de nombreuses graines (Kavirindi *et al.*, 2010). Cette plante occupe le plus souvent les régions arides et semi-arides. Originaire du Mexique, le figuier de barbarie fut ramené, au 16<sup>ème</sup> siècle, en Méditerranée par les Espagnols (Kavirindi *et al.*, 2010 ; Berraaouan *et al.*, 2014). Les pépins de figue de barbarie contiennent environ 10 % d'huile (Yeddes *et al.*, 2012).

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel biologique

Les lots de *Ficus opuntia indica L* (figue de barbarie) ont été cueillis à Sbeitla (région de Kasserine située au centre-ouest Tunisien), en Novembre 2014.

L'huile fixe a été extraite à partir des graines par première presse à froid à l'aide d'une presse à huile mécanique (SMIR, MUV1 65, Maroc) (Capacité en kg produit/heure : selon le type et la densité en vrac du produit à presser 10 kg/h ; Matériaux de construction : Acier inox ; Puissance installée : 2,2 kW ; Poids : 300 kg ; Dimension : 560 cm x 500 cm x 1480 cm).

Les souches bactériennes faisant l'objet de ce travail, sont des germes aérobies de références, Gram positif et négatif (Tableau 1). Elles représentent le groupe principal des germes pathogènes.

**Tableau 1.** Différentes souches bactériennes testées

Gram +		Gram -	
<i>Bacillus subtilis</i> JN 934392	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC43972

La lignée transformée exprimant le virus HPV 18 (*Papilloma virus humain*) a été établie à partir de cellules tumorales provenant d'un cancer du col de l'utérus d'une femme de 31 ans : Henrietta Lacks. Les cellules HeLa sont des cellules adhérentes qui constituent la première lignée cellulaire immortelle d'origine humaine.

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Préparation de l'extrait

Les fruits de figue de barbarie ont été cueillis à maturité et les graines ont été ensuite récupérées. Les pépins de figue de barbarie ont été nettoyés, égouttés et séchés dans un endroit aéré à l'abri de la lumière. Ils ont été ensuite pressés à froid à l'aide d'une presse mécanique à vis sans fin (SMIR, MUV1 65, Maroc) et l'huile récupérée a été stockée dans des bouteilles en verre opaques fermées hermétiquement et gardées au frais (4°C) à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

#### 2.2.2. Evaluation de la couleur

Les paramètres de couleur L\*, a\* et b\* ont été déterminés pour l'huile de figue de barbarie en utilisant un analyseur de couleur muni d'une tête de mesure, c'est un colorimètre de type Minolta Chroma Meter CR-300, Japon. Le paramètre L\* indique la luminosité de l'échantillon, il varie de 0 (le noir) à 100 (le blanc), le paramètre a\* indique les couleurs rougeâtres (a\* > 0) ou verdâtres (a\* < 0), alors que le paramètre b\* indique les couleurs jaunâtres (b\* > 0) ou bleuâtres (b\* < 0). Les tests ont été répétés trois fois.

#### 2.2.3. Acidité libre

L'acidité libre de l'huile de figue de barbarie a été déterminée selon la méthode de la norme internationale relative aux corps gras d'origines animale et végétale (ISO 660, 1996).

#### 2.2.4. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde de l'huile de figue a été déterminé selon la méthode décrite par la norme internationale relative aux corps gras d'origines animale et végétale (ISO3960, 2001).

#### 2.2.5. Extinction spécifique

L'extinction spécifique est un critère crucial d'évaluation de la qualité de l'huile. En effet, cette analyse reflète l'état d'oxydation de l'huile. L'extinction spécifique à 232 et 270 nm a été déterminée selon la méthode décrite par le Conseil Oléicole International 2010 (COI, 2010).

#### 2.2.6. Stabilité oxydative

La stabilité oxydative désigne la résistance de l'huile à l'oxydation. Elle est déterminée par la méthode Rancimat (Halbaut *et al.*, 1997).

#### 2.2.7. Détermination de la composition en acide gras

Les esters méthyliques d'acides gras ont été préparés à partir de la matière grasse suivant la méthode de Morrison et Smith 1964. Dans une éprouvette de 5 ml, 0,1 g de l'échantillon de l'huile de figue de barbarie et 2 ml d'heptane ont été mélangés sous agitation. 0,2 ml de la solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (2 N), ont été ensuite versés et agités pendant 30 secondes. Le mélange a été ultérieurement reposé jusqu'à ce que la phase supérieure de la solution devienne claire ( $\approx$  20 min). La couche supérieure, qui contient les esters méthyliques, a été ensuite décantée et 10  $\mu$ l de la solution d'heptane ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire. La température du four a été programmée selon le gradient suivant: 50°C pendant une minute puis augmentation de 15°C/min jusqu'à 180°C, ensuite une élévation de 5°C/min jusqu'à 220°C qui sera maintenue pendant 10 min. La phase stationnaire était hautement polaire constituée par de cyanopropyl polysiloxane. La température de l'injecteur et du détecteur était de 250°C. Le gaz vecteur était l'hydrogène à un débit de 1,5 ml/min. Les esters méthyliques ont été ensuite identifiés en fonction de leurs temps de rétention. Leur taux a été déterminé par le rapport entre l'aire des pics correspondants et la somme des aires des pics de tous les acides gras. L'identification des acides gras a été faite par la comparaison des temps de rétention dans les chromatogrammes obtenus avec ceux d'une gamme d'acides gras témoins.

Le calcul des aires de chacun des pics est effectué à l'aide de l'intégrateur électronique. Le pourcentage de chaque acide gras est calculé à partir du rapport entre l'aire du pic correspondant et la somme des aires de tous les pics présents selon la formule suivante :

$$\text{Acide gras (\%)} = \frac{A_x \times 1000}{\sum A}$$

Où

$A_x$  : Aire du pic de l'acide gras x ;

$\sum A$  : Somme des aires de tous les pics des acides gras.

#### 2.2.8. Détermination de la composition en triglycérides

La méthode du COI 2010 (20/Doc. No. 20 Rev. 3) a été utilisée pour déterminer la composition de l'huile de figue de barbarie en triglycérides.

### 2.2.9. Détermination de la teneur en pigments chlorophylliens

La détermination de la teneur en pigment chlorophylliens a été réalisée selon la méthode décrite par Wolff (1968). Celle-ci consiste à remplir la cuve du spectromètre avec de l'huile et à lire l'absorbance à 630, 670 et 710 nm par rapport à une cuve témoin de tétrachlorure de carbone pur. La teneur en chlorophylles totaux, exprimée en milligrammes par kilogramme (mg/kg), est donnée par la formule suivante :

$$\text{Chlorophyl les (ppm)} = \frac{DO_{670} - \left[ \frac{(DO_{630} + DO_{710})}{2} \right]}{0,1086 \times l}$$

Où

**DO<sub>630</sub>** : Densité optique à 630 nm ;

**DO<sub>670</sub>** : Densité optique à 670 nm ;

**DO<sub>710</sub>** : Densité optique à 710 nm ;

**L** : Largeur de la cuve (1 cm).

### 2.2.10. Détermination de la teneur en carotènes

La détermination de la teneur en carotènes a été réalisée selon la méthode décrite par Wolff (1968). Trois grammes d'huile ont été pesés dans une fiole de 10 ml et complétés jusqu'au trait de jauge par du cyclohexane. Cette teneur a été quantifiée par la lecture de l'absorbance à 470 nm à l'aide d'un spectromètre ultraviolet visible. La teneur des caroténoïdes exprimée en milligrammes par kilogramme (mg/kg), est donnée par la formule suivante :

$$\text{Carotènes (ppm)} = \frac{DO_{470} \times 10 \times 1000}{E^\circ \times 3}$$

Où

**DO<sub>470</sub>** : Densité optique à 470 nm ;

**E°** : Coefficient d'extinction spécifique = 2000.

### 2.2.11. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols a été effectué selon la méthode de folin Denis décrite par Joslyn (1970).

### 2.2.12. Détermination de la teneur en α-tocophérols

Le dosage de l'α-tocophérol a été effectué selon la méthode décrite par la norme internationale relative aux corps gras d'origines animale et végétale (ISO 9936, 2006).

### 2.2.13. Détermination de la composition stérolique

La composition stérolique a été déterminée par la méthode décrite par le COI 2013 (20/ Doc. No. 30/Rev. 1).

### 2.2.14. Activité antibactérienne

#### a. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été étudiée par la méthode de diffusion (Ben Hsouna *et al.*, 2011). Quatre bactéries : *B.subtilis*, *S. aureus*, *E.coli* et *S.enteritidis* ont été ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton (MH) et incubées pendant 24 h. A partir de ces boîtes, une culture bactérienne a été préparée dans 3 ml bouillon MH pendant 24 h à une agitation de 200 rpm et à 37°C.

La densité optique a été lue à 600 nm et justifiée à 0,08-0,10 densité équivalente à  $10^8$  UFC/ml (Mohammedi, 2006).

Vingt millilitres de milieu gélosé Mueller-Hinton ont été coulés dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre (de façon à avoir 4mm d'épaisseur). Après solidification, 100  $\mu$ l de la suspension bactérienne à tester ( $10^8$  UFC/ml) en phase exponentielle de croissance ont été étalés en surface de la gélose à l'aide d'un écouvillon stérile. Après 5 min de contact, des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans la gélose Mueller-Hinton et chaque puits a été rempli avec 75  $\mu$ l de l'extrait (150 mg/ml). Un test négatif a été réalisé simultanément avec le DMSO et un test de référence a été fait avec la gentamicine (10  $\mu$ g/puits), un antibiotique de référence. Les boîtes de Pétri ainsi préparées ont été incubées à + 4°C pendant 4 h pour permettre la diffusion de la substance active présente dans la gélose. Enfin, les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37°C ou 30°C pendant 24 ou 48 h suivant le microorganisme testé (Trigui *et al.*, 2013). L'effet antibactérien de l'huile contre une souche se traduit par l'apparition d'un halo clair autour du puits dont son diamètre correspond à la zone d'inhibition. Les tests ont été effectués en triple exemplaires et les résultats sont exprimés en mm (Diao *et al.*, 2014). Les souches bactériennes montrant une sensibilité aux extraits testés ont été sélectionnées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides.

#### **b. Détermination des paramètres antibactériens (CMI et CMB)**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration en extrait inhibant toute croissance visible des microorganismes. Elle a été déterminée par la méthode de micro-dilution en puits décrite par Gulluce *et al.* (2007) dans une microplaque stérile de 96 puits avec un volume final dans chaque puits de 200  $\mu$ l. Les extraits ont été dissouts dans le DMSO (Gachkar *et al.*, 2007). Une série de dilution au demi a été préparée pour obtenir une gamme de concentration de 75 à 0,39 mg d'extrait par ml. Ainsi, 90  $\mu$ l de bouillon MH pour les bactéries ont été dispersés dans chaque puits en ajoutant 10  $\mu$ l de chaque inoculum déjà préparé. Cent microlitre de chaque dilution de l'extrait ont été ainsi versés. Le dernier puits, contenant le bouillon MH pour les bactéries sans addition de l'extrait, a été considéré comme témoin de croissance positif. En outre, un autre puits, contenant le DMSO sans extrait, a été utilisé comme control négatif. Le volume final dans chaque puits est alors égal à 200  $\mu$ l. Après homogénéisation du contenu, les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24 h pour les souches bactériennes. Le MTT (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2 H-tetrazolium bromide) a été utilisé comme indicateur de viabilité des microorganismes en ajoutant 25  $\mu$ l du MTT (0,5 mg/ml eau distillée stérile) dans chaque puits et le mélange a été incubé à 37°C pendant 30 min. Les puits, où la croissance microbienne a été inhibée, restaient incolores après l'incubation avec MTT alors que ceux ayant une croissance bactérienne viraient vers le bleu (Ben Hsouna *et al.*, 2011). En revanche, la concentration minimale bactéricide (CMB) correspondait à la concentration minimale inhibant toute croissance visible des microorganismes pendant 48h à 37°C (Diao *et al.*, 2014).

### 2.2.15. Activité anti-oxydante

#### a. Test de décoloration du $\beta$ -carotène

Le test de décoloration du  $\beta$ -carotène a été effectué selon la méthode de Pratt (1980). Cette méthode a été légèrement modifiée.

Brièvement, un mélange renfermant 20  $\mu$ l d'acide linoléique et 200 mg de tween 20 % (émulsifiant) a été ajouté à une solution préalablement préparée en dissolvant 0,2 mg de  $\beta$ -carotène dans 1 ml de chloroforme. Après évaporation sous vide du chloroforme à 40°C, un volume de 50 ml d'eau barbotée en oxygène a été additionné à l'émulsion obtenue. Ensuite, un volume de 5 ml de cette émulsion a été introduit dans un tube à essai contenant 0,5 ml de l'extrait huileux ou du BHT (anti-oxydant synthétique de référence) préparés au préalable à la concentration correspondante (11 ; 1,1 ; 0,11 ; 0,011 ; 0,0011 mg/ml). L'activité anti-oxydante a été déterminée suivant la densité optique des échantillons à 470 nm contre une solution témoin préparée comme précédemment, mais dépourvue de  $\beta$ -carotène. Tous les essais ont été effectués en triple exemplaire. L'absorbance des échantillons préparés et maintenus à l'abri de la lumière, a été mesurée au temps zéro (t = 0) et après 120 min (t = 120 min) d'incubation dans un bain-marie réglé à 50°C.

L'activité anti-oxydante des extraits est évaluée en pourcentage de l'inhibition de la décoloration du  $\beta$ -carotène en utilisant la formule suivante :

$$\text{Activité anti - oxydante (\%)} = 100 \times \left[ \frac{(DO_{\text{échantillon } n} (0 \text{ min}) - DO_{\text{échantillon } n} (120 \text{ min}))}{(DO_{\text{témoin}} (0 \text{ min}) - DO_{\text{témoin}} (120 \text{ min}))} \right]$$

Où

$DO_{\text{témoin}} (0 \text{ min})$  et  $DO_{\text{témoin}} (120 \text{ min})$  : Densité optique du témoin à t = 0 et à t = 120 min, respectivement ;

$DO_{\text{échantillon}} (0 \text{ min})$  et  $DO_{\text{échantillon}} (120 \text{ min})$  : Densité optique de l'échantillon analysé à t = 0 et t = 120 min, respectivement.

#### b. Test de l'activité antiradicalaire : test de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>

L'activité antiradicalaire a été déterminée selon la méthode décrite par Kirby et Schmidt (1997). L'acide ascorbique a été utilisé dans ce test en tant que témoin positif.

#### c. Test du pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur a été effectué selon la méthode de (Chung *et al.*, 1997). L'extrait à tester (1 ml) a été mélangé avec 2,5 ml de tampon phosphate de potassium (0,2 M ; pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanide de potassium (1 %). Le mélange a été incubé pendant 20 min à 50°C dans un bain-marie, puis 2,5 ml d'acide trichloroacétique (10 %) ont été ajoutés. Après une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min à 25°C, 2,5 ml du surnageant ont été mélangés avec 2,5 ml de H<sub>2</sub>O et 0,5 ml de chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> (0,1 %). Un blanc sans échantillon a été préparé dans les mêmes conditions. La densité optique a été par la suite mesurée à 700 nm. Le BHT a été utilisé comme contrôle positif.

### 2.2.16. Etude de la toxicité

La cytotoxicité éventuelle de l'huile de figue de barbarie vis-à-vis des lignées cellulaires en culture a été réalisée par la technique utilisant le 3-(4,5-diméthyl Thiazol-2-yl)-2,5diphényl Tétrazoliumbromide (MTT) (test de réduction de Formazan) (Mosmann, 1983).

## 3. Résultats

### 3.1. Extraction

L'huile végétale extraite à partir des pépins de figue de barbarie est représentée dans la figure 1.

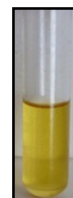


Fig 1. Huile de figue de barbarie extraite par presse à froid

L'huile de figue de barbarie obtenue par première pression à froid des graines de figue de barbarie était de couleur jaune transparent.

### 3.2. Evaluation de la couleur

Le paramètre  $L^*$  indique la luminosité de l'échantillon, il varie de 100 (le blanc) à 0 (le noir), le paramètre  $a^*$  indique les couleurs rougeâtres ( $a^* > 0$ ) ou verdâtres ( $a^* < 0$ ), alors que le paramètre  $b^*$  indique les couleurs jaunâtres ( $b^* > 0$ ) ou bleuâtres ( $b^* < 0$ ). Les mesures de paramètres de couleur obtenues sont récapitulées dans la figure 2.

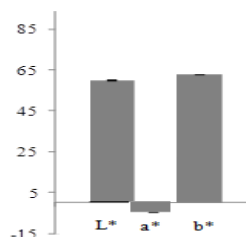


Figure 2. Évaluation des trois paramètres de couleurs ( $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$ ) de l'huile de figue de barbarie

L'huile de figue de barbarie avait une couleur jaune claire alors que la couleur verte (valeurs de  $a^*$  négatives) était faiblement représentée. L'intensité de la couleur jaune était légèrement supérieure à celle de la luminosité.

### 3.3. Acidité libre et indice de peroxyde

Les résultats de l'analyse de l'acidité libre (un paramètre de qualité) et l'indice de peroxyde de l'huile de figue de barbarie sont illustrés dans le tableau 2.

Tableau 2. Acidité libre et l'indice de peroxyde de l'huile de figue de barbarie

	Huile de figue de barbarie
Acidité libre (% acide oléique)	$2 \pm 0,015$
Indice de peroxyde (mécq $O_2$ /Kg)	$5,75 \pm 0,224$

L'huile de figue de barbarie avait une acidité faible de l'ordre de 2 et un indice de peroxyde de 5,75 et inférieur à 15 méq  $O_2$ /Kg.



### 3.4. Extinction spécifique

Les coefficients d'extinction spécifiques  $K_{232}$  et  $K_{270}$  permettent d'évaluer l'état d'oxydation d'une huile. Ils expriment respectivement l'absorption maximale des diènes et des triènes conjugués. Les données recueillies pour ces coefficients sont consignées dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Coefficients d'extinction à 232 et à 270 de l'huile de figue de barbarie

	Huile de figue de barbarie
$k_{232}$	$2,693 \pm 0,044$
$k_{270}$	$0,422 \pm 0,008$

L'extinction spécifique de l'huile de figue de barbarie ( $k_{232}$ ) était de  $2,693 \pm 0,044$  et l'absorbance à 270 nm égale à  $0,422 \pm 0,008$ . Les valeurs obtenues montrent que l'huile de figue de barbarie présentait des extinctions spécifiques faibles.

### 3.5. Stabilité oxydative

La stabilité oxydative permet de donner une estimation sur la durée de conservation d'une huile. Plus le temps de résistance à l'oxydation est élevé, plus l'huile est stable au cours de la conservation. Cette stabilité a été déterminée par la mesure du temps d'induction de l'oxydation. Les valeurs moyennes de la stabilité oxydative de l'huile de figue de barbarie était de l'ordre de  $2,97 \text{ h} \pm 0,05$ .

### 3.6. Composition en acide gras

Les acides gras sont les principaux constituants des huiles végétales. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Composition en acide gras (%) de l'huile de figue de barbarie

Acides gras	Huile de figue de barbarie
Acide myristique (C14:0)	$0,151 \pm 0,015$
Acide pentadécyclique (C15:0)	–
Acide palmitique C16:0	<b><math>12,722 \pm 0,043</math></b>
Acide 9-cis-hexadécénoïque (C16:1n-9)	$0,061 \pm 0,02$
Acide palmitoléique (C16:1n-7)	$0,679 \pm 0,003$
Acide margarique (C17:1)	–
Acide stéarique (C18:0)	$4,541 \pm 0,024$
Acide oléique (C18:1n-9)	<b><math>20,788 \pm 0,106</math></b>
Acide trans-vaccénique (C18:1n-7)	$4,3 \pm 0,141$
Acide linoléique (C18:2n-6)	<b><math>55,731 \pm 0,072</math></b>
Acide $\alpha$ -linoléique (C18:3n-3)	$0,275 \pm 0,005$
Acide arachidique (C20:0)	$0,363 \pm 0,021$
Acide eicosénoïque (C20:1n-9)	$0,241 \pm 0,016$
Acide béhénique (C22:0)	$0,075 \pm 0,065$
Acide érucique (C22:1n-9)	$0,074 \pm 0,01$
C18:1/C18:2	0,37

En analysant les valeurs moyennes du chromatogramme de l'huile de fige de barbarie, il s'avère que cette huile est riche en acides gras insaturés. Les pourcentages de l'acide linoléique étaient de l'ordre de 55,731 % alors que les pourcentages de l'acide oléique étaient d'environ 20,788 %. Ces deux acides gras étaient donc les prédominants, suivi des acides palmitique et stéarique à des taux de l'ordre de 12,722 % et 4,541 %, respectivement.

### 3.7. Composition en triglycéride

Les huiles naturelles sont constituées essentiellement de triglycérides qui sont des triacylglycérols où une molécule de glycérol est estérifiée par trois molécules d'acides gras, qui ne sont pas forcément identiques. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 5.

**Tableau 5.** Composition en triglycérides (%) de l'huile de fige de barbarie

Triglycérides (%)	Huile de fige de barbarie
ECN42	24,809
ECN44	38,763
ECN46	24,676
ECN48	9,583
ECN50	2,169
ECN52	-

Les résultats rapportés dans le tableau montrent que les principaux types des triglycérides existant dans l'huile de fige de barbarie sont ECN44, ECN42 et ECN46. Les triglycérides ECN44 étaient majoritaires ayant une concentration de 38,763 %.

### 3.8. Teneurs en phénols totaux et en $\alpha$ -tocophérol

Les teneurs en phénols totaux et en  $\alpha$ -tocophérol de l'huile de fige de barbarie sont consignées dans le tableau 6. Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  DS.

**Tableau 6.** Teneurs en phénols totaux (ppm) et  $\alpha$ -tocophérol de l'huile de fige de barbarie

Paramètres	Huile de fige de barbarie
Teneur en phénols totaux (ppm)	23,98 $\pm$ 3,23
Teneur en $\alpha$ -tocophérol (ppm)	602 $\pm$ 3,8

La concentration en composés phénoliques totaux pour l'huile de fige de barbarie était faible de l'ordre de 23,98 ppm. Cependant, l'huile de fige de barbarie était riche en  $\alpha$ -tocophérol avec une concentration d'environ 602 ppm.

### 3.9. Composition stérolique

La fraction stérolique de l'huile végétale représente entre 10 et 15% de l'insaponifiable majoritairement présentée par le  $\beta$ -Sitostérol suivi du campestérol et du stigmastérol. L'analyse de l'huile de fige de barbarie a montré la présence d'une dizaine de stérols dont les pourcentages sont donnés dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Composition en stérols (%) de l'huile de figue de barbarie

Nature	Huile de figue de barbarie
Cholestérol	0,91 ± 0,014
Brassicastérol	—
24-méthylène-cholestérol	0,065 ± 0,007
Campestérol	9,505 ± 0,007
Campestanol	0,5 ± 0,07
Stigmastérol	1,575 ± 0,035
Δ-7-Campestérol	1,09 ± 0,028
Δ-5-23-Stigmastadiénol	0,075 ± 0,007
Clérostérol	1,135 ± 0,021
β-Sitostérol	70,99 ± 0,014
Sitostanol	4,185 ± 0,021
Δ-5-Avé nastérol	4,97 ± 0,028
Δ-5-24-Stigmastadiénol	1,2 ± 0,028
Δ-7-Stigmastérol	1,48 ± 0,014
Δ-7-Avé nastérol	2,32 ± 0,028
Stérols totaux (ppm)	8129,5 ± 28,99
β-Sitostérol (ppm)	5839,5 ± 13,435

L'analyse de la fraction stérolique de l'huile de figue de barbarie a révélé la présence de 14 composés identifiés par comparaison à des chromatogrammes de références analysés dans les mêmes conditions. L'huile de figue de barbarie avait une quantité considérable de stérols.

Le β-Sitostérol était le plus abondant des composés stéroliques. Il y présente environ 71 % suivi du campestérol et Δ-5-Avé nastérol. Les stérols 24-méthylène-cholestérol et Δ-5-23-Stigmastadiénol avaient les concentrations les plus faibles.

### 3.10. Teneurs en pigments chlorophylliens et en caroténoïdes

Les concentrations de l'huile de figue de barbarie en chlorophylle et en caroténoïdes sont données dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Teneurs en chlorophylle et caroténoïdes de l'huile de figue de barbarie

	Huile de figue de barbarie
Teneur en chlorophylle (ppm)	0,775 ± 0,03
Teneur en carotènes (ppm)	7,708 ± 0,09

Chaque valeur représente la moyenne de trois essais ± DS.

Les teneurs en chlorophylle et en caroténoïdes étaient faibles dans l'huile de figue de barbarie.

La teneur en caroténoïdes (7,708 ppm) de l'huile était strictement supérieure à celle en chlorophylles (0,775 ppm).

### 3.11. Activité antibactérienne

#### 3.11.1. Détermination des zones d'inhibition

Les diamètres des zones d'inhibition sont consignés dans le tableau 9.

**Tableau 9.** Zones d'inhibition (mm) de l'huile de figue de barbarie envers certaines souches pathogènes

	Diamètre d'inhibition (mm)			
	Gram +		Gram -	
	<i>B. subtilis</i> JN 934392	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. enteritidis</i> ATCC43972
Huile de figue de barbarie	15 ± 0,5	-	8 ± 2,0	10 ± 1,0
Gentamicine	20 ± 0,2	25 ± 0,8	21 ± 00	18 ± 0,8

Il paraît que l'huile de figue de barbarie semble avoir une activité antibactérienne contre *B. subtilis*, *E. coli* et *S. enteritidis*. Cependant, cette huile n'a révélé aucune activité inhibitrice sur les bactéries *S. aureus* (Gram+). Les diamètres d'inhibition variaient de 8 à 15 mm. L'effet antibactérien de l'huile de figue de barbarie était plus important contre *B. subtilis* (15 ± 0,5 mm) que contre *E. coli* (8 ± 2,0 mm) et *S. enteritidis* (10 ± 1,0 mm). L'huile a présenté la plus faible activité bactérienne sur *E. coli*. Les zones d'inhibition de la gentamicine (antibiotique utilisé comme référence) ont été toujours supérieures à celles déterminées avec l'huile de figue de barbarie.

#### 3.11.2. Détermination des paramètres antibactériens (CMI et CMB)

Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) sont illustrées dans le tableau 10.

**Tableau 10.** Valeurs des CMI et CMB (µg/ml MH) de l'huile de figue de barbarie déterminées par la méthode de micro-dilution envers certaines souches pathogènes

		Huile de figue de barbarie	
Gram +	<i>B. subtilis</i> JN 934392	CMI	6,25
		CMB	25
		CMB/CMI	≥ 4
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	CMI	-
		CMB	-
		CMB/CMI	-
Gram -	<i>E. coli</i> ATCC 25922	CMI	6,25
		CMB	25
		CMB/CMI	≥ 4
	<i>S. enteritidis</i> ATCC43972	CMI	6,25
		CMB	25
		CMB/CMI	≥ 4

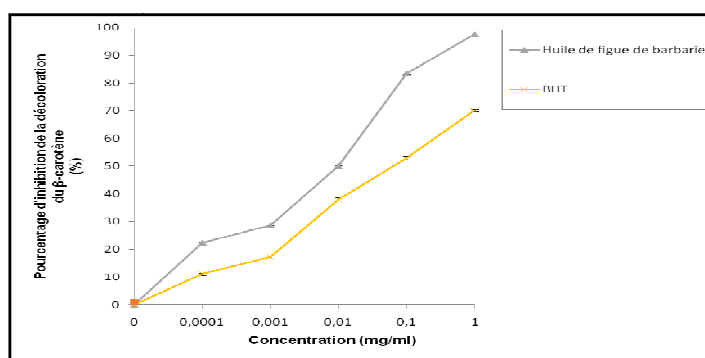
Rapport CMB / CMI ≥ 4 : Pouvoir bactériostatique ; CMB / CMI < 4 : Pouvoir bactéricide

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile de figue de barbarie était la même pour l'inhibition des souches de *B. subtilis*, *S. aureus* et *S. enteritidis*. Celle-ci était de 6,25 µg/ml MH. Les valeurs de CMB étaient également les mêmes sur les Gram positifs que Gram négatifs. L'huile a montré une activité bactériostatique sur *B. subtilis*, *S. aureus* et *S. enteritidis*.

### 3.12. Activité anti-oxydante

#### 3.12.1. Test de décoloration du β-carotène

La cinétique de l'inhibition du blanchissement du β-carotène en présence de l'huile de figue de barbarie et l'antioxydant standard (BHT) est représentée dans la figure 3.



**Figure 3.** Cinétique de blanchissement du β-carotène à 470 nm en présence de l'anti-oxydant standard (BHT) et l'huile de figue de barbarie

Les concentrations efficaces : CE<sub>50</sub> (concentration capable de fixer 50% des radicaux) sont présentées dans le tableau 11.

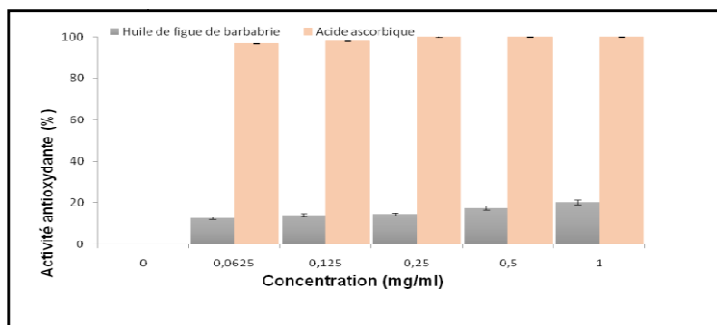
**Tableau 11.** Concentrations efficaces de l'huile de figue de barbarie et du BHT capables de piéger 50 % des radicaux libres

	CE <sub>50</sub> (µg/ml)
Huile de figue de barbarie	10
BHT	94,4

La figure 3 présente les résultats des mesures du pourcentage d'inhibition de la décoloration du β-carotène en fonction des concentrations de l'huile de figue de barbarie et du BHT. Le pourcentage d'inhibition du blanchissement du β-carotène augmentait avec l'augmentation de la concentration soit pour l'huile de figue de barbarie soit pour le BHT. Le pourcentage d'inhibition de l'huile de figue de barbarie était significativement plus élevé que celui du BHT pour toutes les concentrations. L'huile de figue de barbarie et le BHT (butylhydroxytoluène) ont inhibé de manière significative l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β-carotène par rapport au contrôle négatif qui a représenté 100 % de peroxydation. L'huile de figue de barbarie avait une CE<sub>50</sub> (CE<sub>50</sub> = 10 µg/ml) nettement plus faible que le BHT (CE<sub>50</sub> = 94,4 µg/ml). La capacité anti-oxydante de l'huile de figue de barbarie paraît significativement supérieure à celle du BHT. L'huile de figue de barbarie est 1,4 fois plus active que le BHT pour une concentration de 1 mg/ml.

### Activité antiradicalaire (test de DPPH)

Les résultats de l'activité antiradicalaire sont présentés dans la figure 4. Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  DS.



**Figure 4.** Activité anti-oxydante de l'huile de figue de barbarie exprimée par l'inhibition de l'activité radicalaire du DPPH

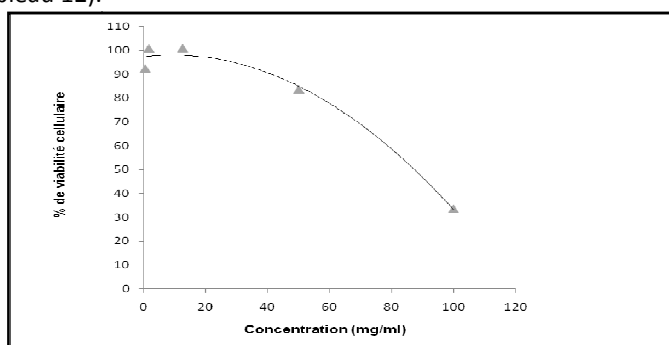
Une faible activité antiradicalaire a été enregistrée pour l'huile de figue de barbarie par le test DPPH. D'après la figure 4, cette activité a été légèrement élevée avec l'augmentation de la concentration de l'huile de figue de barbarie. Nous avons constaté que l'acide ascorbique a présenté une activité antioxydante plus forte que l'huile de figue de barbarie contre la peroxydation des lipides ; Pour une concentration de 0,0625 mg/ml, l'effet antioxydant de l'acide ascorbique est environ 7 fois plus important que celui de l'huile de figue de barbarie.

### 3.12.2. Pouvoir réducteur

L'huile de figue de barbarie n'a pas de pouvoir réducteur. En effet, l'absorbance à 700 nm était nulle pour des concentrations de 0 à 100  $\mu$ g/ml d'huile. Elle n'a présenté aucune capacité à réduire le fer.

### 3.13. Cytotoxicité

Les résultats de cytotoxicité de l'huile de figue de barbarie sont exprimés en pourcentage (%) de survie cellulaire en fonction de ces concentrations croissantes (Figure 5, Tableau 12).



**Figure 5.** Viabilité cellulaire de la lignée HeLa mesurée par le test MTT 24 h après incubation avec des concentrations croissantes de l'huile de figue de barbarie

**Tableau 12.** Concentration de l'huile de figue de barbarie qui inhibe 50 % de la croissance cellulaire (CI<sub>50</sub>)

Huile	CI <sub>50</sub> (mg/ml)
Huile de figue de barbarie	90

La multiplication des cellules cancéreuses avait diminué avec l'augmentation de la concentration de l'huile. Le pourcentage de viabilité cellulaire à la concentration de 0,2 mg/ml était de 100 %. C'est seulement à 100 mg/ml que la viabilité cellulaire a chuté au dessous de 30 %.

#### 4. Discussion

Les huiles sont considérées comme une source primordiale de matières premières recherchées en biomédical. Ainsi, la connaissance de leurs caractéristiques physico-chimiques et leurs activités biologiques paraît indispensable en vue d'une meilleure valorisation du produit. Dans ce cadre, le but de cette étude consistait à déterminer les caractéristiques physico-chimiques de l'huile de figue de barbarie et à évaluer ses propriétés antibactérienne, anti-oxydante et cytotoxique.

L'huile de figue de barbarie avait une couleur jaune claire. Ces résultats s'accordent avec ceux de Ramadan et Mörsel (2003) concernant la même variété. La couleur jaune claire pourrait être expliquée par la présence de quantités assez importantes de caroténoïdes.

La faible quantité de chlorophylle déterminée dans l'huile de figue de barbarie pourrait expliquer la faible intensité de leur couleur verte, comme cela a été décrit dans la littérature (El Hachimi *et al.*, 2014). Toutefois, il est à noter que la teneur de l'huile en pigments dépend du stade de la maturité du fruit, du processus d'extraction et des conditions de stockage. En effet, les huiles extraites des graines des fruits murs contiennent souvent plusieurs pigments de carotène que celles extraites d'un fruit jeune qui renferme plus de pigments de chlorophylle (Ramadan et Mörsel, 2003).

L'acidité constitue une caractéristique fondamentale de la qualité de l'huile permettant d'évaluer le pourcentage d'acides gras libres exprimé conventionnellement en acide oléique. L'analyse de l'acidité libre de l'huile de figue de barbarie a montré que sa valeur se situait dans les limites de la norme du Codex Alimentarius applicable aux huiles végétales fixées à 2 % (CODEX, 1999). L'acidité de l'huile dépend de la maturité des fruits, du procédé d'extraction et de l'activité de la lipase (El Antari *et al.*, 2000 ; Tanouti *et al.*, 2011).

Concernant l'indice de peroxyde, l'huile de figue de barbarie était d'une qualité acceptable. En effet, il a été rapporté que les huiles non raffinées rancissaient quand l'indice de peroxyde est compris entre 20 et 40 méq O<sub>2</sub>/kg d'huile (Ajayi *et al.*, 2006). En comparant la valeur de l'indice de peroxyde trouvée à celles de la norme du CODEX (1999), nous constatons que l'huile de figue de barbarie était conforme à la norme, ce qui permettait de la classer dans la catégorie des huiles vierges comestibles de bonne qualité ( $I_p \leq 15$ ).

Les données recueillies pour l'extinction spécifique ont montré que les valeurs d'absorbance de l'huile de figue de barbarie sont faibles. L'examen spectrophotométrique d'une huile fournit une idée complémentaire sur sa qualité (Gharby *et al.*, 2013). Plus l'absorbance à 232 nm est forte, plus l'huile est peroxydée. Plus l'extinction à 270 nm est élevée, plus l'huile est riche en produits d'oxydation secondaires. L'huile a donc une faible aptitude à la conservation (Oguzçu *et al.*, 2008).

L'analyse de la composition de l'huile de figue de barbarie a montré une richesse en acides gras insaturés, avec un profil de type linoléique-oléique. L'huile de figue de barbarie s'avère fortement insaturée (plus de 80 %) avec une prédominance en acide linoléique (55,731 %  $\pm$  0,072). Nos résultats s'accordent avec les travaux d'Ennouri *et al.* (2005) sur l'huile de figue de barbarie d'origine tunisienne également où la teneur en acides gras poly-insaturés se situe aux environs de 88 % avec prédominance de l'acide linoléique (jusqu'à 56 %).

La composition acide de l'huile de figue de barbarie était comparable à celle des huiles très utilisées dans des préparations cosmétologiques comme l'huile de tournesol et d'onagre où l'acide linoléique est majoritaire (El Hachimi *et al.*, 2015). En effet, au niveau de la peau, l'acide linoléique est l'un des acides gras essentiels indispensables à la formation des membranes cellulaires en participant à la restauration des lipides épidermiques (Miller *et al.*, 1991), en particulier les céramides qui jouent un rôle fondamental dans la rétention de l'eau (Caballero *et al.*, 2003). Ainsi, l'acide linoléique intervient dans la fluidité membranaire et permet de limiter les pertes hydriques de la peau, lui offre des qualités adoucissantes et nutritives et empêche son dessèchement et la desquamation fine et exagérée (Holman, 1998 ; Miller *et al.*, 1991). D'autres travaux ont constaté que l'acide linoléique est impliqué dans la production de la vitamine D, la prolifération et la différenciation cellulaires (Frühwirth et Hermetter, 2007). Au niveau du réticulum cytoplasmique, l'acide linoléique se transforme sous l'action d'enzymes en acide arachidonique précurseur des prostaglandines, des thromboxanes, de la prostacycline et des leucotriènes. Ces médiateurs lipidiques sont des pro-inflammatoires impliqués dans l'inflammation et la cicatrisation (Harper et Jacobson, 2001; Caballero *et al.*, 2003).

La richesse de l'huile de figue de barbarie à la fois en acide oléique et en acide palmitique, lui confère des propriétés anti-inflammatoires et des vertus régénératrices et hydratantes (Pereira *et al.*, 2014 ; Gaur *et al.*, 2014).

Le temps d'induction de l'oxydation offre une preuve directe de l'évolution de la résistance au rancissement oxydatif de l'huile végétale. La stabilité oxydative permet ainsi de donner une estimation sur la durée de conservation d'une huile (Beltran *et al.*, 2005). Cette stabilité est étroitement liée à la variété et à la concentration de l'huile en composés phénoliques, en acides gras mono-insaturés et poly-insaturés, en tocophérols et en pigments. Dans notre étude, la valeur moyenne du temps d'induction de l'oxydation reflétant la stabilité oxydative de l'huile de figue de barbarie était plus faible que celle rapportées par la littérature. Le temps d'induction de l'huile de figue de barbarie évalué par Gharby *et al.* (2013) a été de  $7 \pm 1$  h (110°C



et 20 l/h). Cette variabilité est influencée par plusieurs facteurs : le biotope, la variété, les systèmes d'extraction, les conditions de stockage, le processus de maturation et les conditions expérimentales de l'essai (Raczyk *et al.*, 2015).

Une teneur élevée en  $\alpha$ -tocophérol a été détectée dans l'huile de figue de barbarie aussi bien dans notre étude que dans la littérature ce qui pourrait expliquer sa stabilité oxydative (Ramadan et Mörsel, 2003 ; Gharby *et al.*, 2013). En effet, l' $\alpha$ -tocophérol est capable de freiner la propagation de la réaction d'auto-oxydation des acides gras insaturés, qui a pour conséquence l'inhibition du phénomène de rancissement oxydatif.

L'analyse de la fraction stérolique a révélé que le composé stérolique majoritaire dans l'huile de figue de barbarie était le  $\beta$ -Sitostérol. Les phytostérols, de façon générale et en particulier les  $\beta$ -Sitostérols ont un intérêt thérapeutique en raison de leur activité bactéricide et anti-oxydante (Ntanios, 2001 ; N'Guessan *et al.*, 2009).

L'huile de figue de barbarie semble avoir une activité antibactérienne contre toutes les souches étudiées sauf celle du *S. aureus*. De plus, nos résultats ont montré que *B. subtilis* Gram (+) était plus sensible à l'huile de figue de barbarie que *S. enteritidis* Gram (-). Cette moindre sensibilité pour la souche Gram (-) pourrait être attribuée à la présence d'une membrane externe revêtue de lipopolysaccharides qui a limité la diffusion de l'huile. Par contre, l'absence de cette barrière dans les bactéries Gram (+) a permis le contact direct de l'huile avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire. Ainsi, la diffusion de l'huile a provoqué une augmentation de la perméabilité aux ions intracellulaires et la fuite des constituants vitaux de la bactérie (Sadou *et al.*, 2015). L'huile de figue de barbarie a révélé un pouvoir bactériostatique sur les germes testés. Il semble ainsi que cette huile ne détruit pas les cellules bactériennes mais compromet l'intégrité fonctionnelle de la membrane plasmique (Carson *et al.*, 2002 ; Reichling *et al.*, 2002). Ce pouvoir antibactérien pourrait résulter d'un effet de synergie de plus d'un composant. En effet, des études antérieures ont montré que l'acide linoléique, détecté dans l'huile de figue de barbarie, est doté d'un pouvoir antibactérien (Zheng *et al.*, 2005). D'autres études ont considéré les tocophérols, un composé bioactif de l'huile testée, comme des composés antimicrobiens puissants (N'Guessan *et al.*, 2009 ; Saleh *et al.*, 2013 ; Popa *et al.*, 2015).

Le potentiel anti-oxydant de l'huile de figue de barbarie a été évalué via la méthode de blanchissement du  $\beta$ -carotène à travers leur capacité à empêcher son oxydation. Ce pouvoir reflète la capacité des composés à capter les radicaux libres. Le test a révélé que l'huile de figue de barbarie, exerçait une activité anti-oxydante significative en comparaison avec l'anti-oxydant de référence (BHT). Cette huile a pu neutraliser les espèces réactives oxygénées dérivées de l'oxydation de l'acide linoléique et prévenir par la suite l'oxydation du  $\beta$ -carotène. Cette capacité anti-oxydante de l'huile de figue de barbarie peut être attribuée aux tocophérols. En effet, une corrélation significative entre la teneur en tocophérol et l'activité anti-oxydante a été rapportée au niveau de la littérature (Stevenson *et al.*, 2007).

L'activité antiradicalaire de l'huile de figue de barbarie a été également déterminée *in vitro* par le test de DPPH. Le DPPH est un radical libre stable qui se réduit en

présence d'un anti-oxydant. Cette activité résulterait majoritairement des composés phénoliques (Almela *et al.*, 2006). En effet, la structure chimique des polyphénols et notamment les flavonoïdes leur confère la capacité de piéger ce radical libre par transfert d'hydrogène. D'après nos résultats, l'huile de figue de barbarie réagissait faiblement contre les radicaux DPPH. Cette constatation serait en rapport avec ses faibles concentrations en polyphénols (Stevenson *et al.*, 2007 ; Parry *et al.*, 2008 ). Cette différence pourrait être liée au biotope (Ragan et Glombitza, 1986).

L'étude de la cytotoxicité de l'huile a montré que son effet sur la viabilité des cellules tumorales était dépendant de sa concentration, puisque la réduction de sa concentration était associée à une augmentation de la viabilité cellulaire. Compte tenu des résultats de la cytotoxicité, l'huile de figue de barbarie peut être considérée comme des produits non toxiques et pourrait être utilisée dans la dermatopharmacie.

### Références bibliographiques

Ajayi, I. A., Oderinde, R. A., Kajogbola, D. O., & Uponi, J. I. 2006. Oil content and fatty acid composition of some underutilized legumes from Nigeria. *Food Chemistry* 99(1): 115-120.

Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. A., Roca, M. J., & Rabe, V. 2006. Liquid chromatographic–mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A* 1120(1): 221-22.

Beltran, G., Aguilera, M. P., Del Rio, C., Sanchez, S., & Martinez, L. 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of *Hojiblanca* virgin olive oils. *Food Chemistry* 89(2): 207-215.

Ben Hsouna, A., Trigui, M., Mansour, R. B., Jarraya, R. M., Damak, M., & Jaoua, S. 2011. Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratoniasiliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology* 148(1): 66-72.

Berraaouan, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Legssyer, A., Sindic, M., Aziz, M., & Bnouham, M. 2014. Evaluation of antidiabetic properties of cactus pear seed oil in rats. *Pharmaceutical Biology* 52(10): 1286-1290.

Berraaouan, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Legssyer, A., Sindic, M., Aziz, M., & Bnouham, M. 2014. Evaluation of antidiabetic properties of cactus pear seed oil in rats. *Pharmaceutical Biology* 52(10): 1286-1290.

Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Kjørsvik, E., Montero, D., Socorro, J., Fernández, A. J., & Rosenlund, G. 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225(1): 325-340.

Carson, C. F., Mee, B. J., & Riley, T. V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-

kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents & chemotherapy* 46(6): 1914-1920.

Caballero, M. J., Izquierdo, M. S., Kjørsvik, E., Montero, D., Socorro, J., Fernández, A. J., & Rosenlund, G. 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225(1): 325-340.

Carson, C. F., Mee, B. J., & Riley, T. V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents & chemotherapy* 46(6): 1914-1920.

Chung, S. K., Osawa, T., & Kawakishi, S. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Bioscience, biotechnology, & biochemistry* 61(1) : 118-123.

CODEX (1999). Norme codex pour graisses et les huiles comestibles non visées par des normes individuelles. Codex STAN 19-1981 (Rév. 2-1999), 5p.

COI 2010. International Olive Council, COI/T, 20/Doc. No. 20 Rev. 3. Determination of the difference between actual and theoretical content of triacylglycerols with ECN42.

COI 2010. International Olive Council, COI/T.20/Doc. No 19 /Rev. 3. Method of analysis spectrophotométric investigation in the ultraviolet.

COI 2013. International Olive Council, COI/ T, 20/ Doc. No. 30/Rev. 1. Determination of the composition and content of sterols and triterpenedialcohols by capillary column gas chromatography.

Diao, W. R., Hu, Q. P., Zhang, H., & Xu, J. G. 2014. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control* 35(1): 109-116.

El Antari, A., Hilal, A., Boulouha, B., & El Moudni, A. 2000. Influence of variety, environmental and cultural techniques on the characteristics of olive fruits and the chemical composition of extra virgin olive oil in Morocco. *Olivae* 80(1): 29-36.

El Hachimi, F., El Antari, A., Boujnah, M., Bendrisse, A., & Alfaiz, C. 2015. Comparison of oils seed and fatty acid content of various Moroccan populations of jujube, grenadier and prickly pear. *Journal of Materials & Environmental Science* 6(5): 1488-1502.

Ennouri, M., Evelyne, B., Laurence, M., & Hamadi, A. 2005. Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chemistry* 93(3): 431-437.

Frühwirth, G. O., & Hermetter, A. 2007. Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. *European Journal of Lipid Science & Technology* 109(11): 1128-1140.

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum* and *Rosmarinusofficinalis* essential oils. *Food Chemistry* 102(3): 898-904.

Gaur, P. K., Mishra, S., & Aeri, V. 2014. Formulation and evaluation of guggul lipid nanovesicles for transdermal delivery of aceclofenac. *The Scientific World Journal* 2014(1): 10.

Gharby, S., Harhar, H., Bouzoubaa, Z., Asdadi, A., El Yadini, A., & Charrouf, Z. 2015. Chemical characterization and oxidative stability of seeds and oil of sesame grown in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. In press.

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., & Ozkan, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry* 103(4): 1449-1456.

Halbaut, L., Barbé, C., Aroztegui, M., & De La Torre, C. 1997. Oxidative stability of semi-solid excipient mixtures with corn oil and its implication in the degradation of vitamin A. *International Journal of Pharmaceutics* 147(1): 31-40.

Harper, C.R., & Jacobson, T.A. 2001. The fats of life. *Archives of Internal Medicine* 161: 2185-2192.

Holman, R. T. 1998. The slow discovery of the importance of  $\omega$ 3 essential fatty acids in human health. *The Journal of Nutrition* 128(2): 427S-433S.

ISO3960. International norm, Animal and Vegetable fats and oils. Determination of peroxide value (3rd ed.), 2001.

ISO9936. Animal and vegetable fats and oils -Determination of tocopherol and tocotrienol contents by high-performance liquid, 2006 chromatography.

ISO660. International norm, Animal and Vegetable fats and oils. Determination of acid value and acidity (2nd ed.), 1996.

Joslyn, M.A. 1970. *Methods in Food Analysis: Physical, Chemical, and instrumental Methods of Analysis*. (2nd edition). Academic Press, New York, pp. 109-140.

Kavirindi, I. U., Du Preez, P. J., & Brown, L. R. 2010. Distribution and potential invasion of *Opuntia* spp. on selected Namibian sites. *In Second RUFORUM biennial meeting*, Uganda.

Kirby, A. J., & Schmidt, R. J. 1997. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs—I. *Journal of Ethnopharmacology* 56(2): 103-108.

Miller, C. C., Tang, W., Ziboh, V. A., & Fletcher, M. P. 1991. Dietary supplementation with ethyl ester concentrates of fish oil (n-3) and borage oil (n-6) polyunsaturated fatty acids induces epidermal generation of local putative anti-inflammatory metabolites. *Journal of Investigative Dermatology* 96(1) : 98-103.

Mohammedi, Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UABB de Tlemcen.

Morrison, W. R., & Smith, L. M. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *Journal of Lipid Research* 5(4): 600-608.

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 65(1-2) : 55-63.

N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature* 6(1).

Ntanios, F. 2001. Plant sterol-ester-enriched spreads as an example of a new functional food. *European Journal of Lipid Science & Technology* 103(2): 102-106.

Ogutçu, M., Mendeş, M., & Yılmaz, E. 2008. Sensorial and physico-chemical characterization of virgin olive oils produced in Canakkale. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 85(5): 441-456.

Parry, J. W., Cheng, Z., Moore, J., & Yu, L. L. 2008. Fatty acid composition, antioxidant properties, and antiproliferative capacity of selected cold-pressed seed flours. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 85(5): 457-464.

Pereira, D. M., Correia-da-Silva, G., Valentão, P., Teixeira, N., & Andrade, P. B. 2014. Anti-inflammatory effect of unsaturated fatty acids and ergosta-7, 22-dien-3-ol from *Marthasterias glacialis*: prevention of chop-mediated er-stress and NF-κB activation. *PLoS ONE* 9(2), e88341.

Popa, O., Băbeanu, N. E., Popa, I., Niță, S., & Dinu-Pârvu, C. E. 2015. Methods for Obtaining and Determination of Squalene from Natural Sources. *BioMed Research International* 2015(1),16.

Pratt, D. E. 1980. Natural antioxidants of soybeans and other oil-seeds. In *Autoxidation in food and biological systems* (pp. 283-293). Springer US. Press: Totowa, New Jersey, pp 3-15.

Raczyk, M., Popis, E., Kruszewski, B., Ratusz, K., & Rudzińska, M. 2015. Physicochemical quality and oxidative stability of linseed (*Linum usitatissimum*) and camelina (*Camelina sativa*) cold-pressed oils from retail outlets. *European Journal of Lipid Science & Technology* 117(1), 0000-00001.

Ragan, M. A., & Glombitza, K. W. 1986. Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progress in Phycological Research* 4: 129-241.

Ramadan, M. F., & Mörsel, J. T. 2003. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chemistry* 82(3): 339-345.

Reichling, J., Weseler, A., Landvatter, U., & Saller, R. 2002. Bioactive essential oils used in phytomedicine as antiinfective agents: Australian tea tree oil and manuka oil. *Acta Phytotherapeutica* 1 : 26-32.

Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., & Hadeif, Y. 2015. Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinushalepensis* Mill. du Nord est Algérien. *Synthèse:Revue des Sciences & de la Technologie* 30(1) : 33-39.

Saleh, A. K., Saltani, E. A., Abbas Al-Issa, F., & GomaaMelad, A. S. 2013. Evaluation of antimicrobial activity of somenewly synthesized 4-thiazolidinones. *Journal of the Chinese Chemical Society* 60(10): 1234-1240.

Stevenson, D. G., Eller, F. J., Wang, L., Jane, J. L., Wang, T., & Inglett, G. E. 2007. Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 55(10): 4005-4013.

Tanouti, K., Serghini-Caid, H., Chaieb, E., Benali, A., Harkous, M., & Elamrani, A. 2011. Quality improvement of olive oils produced in the eastern Morocco. *Les Technologies de Laboratoire* 6(22): 1-12.

Trigui, M., Hsouna, A. B., Tounsi, S., & Jaoua, S. 2013. Chemical composition and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Thymelaeahirsuta* with special reference to its mode of action. *Industrial Crops & Products* 41: 150-157.

Wolff, J.P. 1968. Manuel d'analyse des corps gras. Edition Azoulay, Paris, pp.370.

Yeddes, N., Chérif, J. K., Jrad, A., Barth, D., & Trabelsi-Ayadi, M. 2012. Supercritical SC-CO<sub>2</sub> and Soxhlet n-hexane extract of Tunisian *Opuntia ficus indica* seeds and fatty acids analysis. *Journal of Lipids* 2012 (1), 6.

Zheng, C. J., Yoo, J. S., Lee, T. G., Cho, H. Y., Kim, Y. H., & Kim, W. G. (2005). Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS Letters*, 579(23), 5157-5162.

Citation: Bardaa S., Aloui F., Ben Mansour R., Jabeur H., Bouaziz M., Sahnoun Z., 2022. Caractérisation physicochimique de l'huile de *Opuntia ficus indica* (L.) de la Tunisie et évaluation de ses activités anti-oxydante, antibactérienne et cytotoxique. *J.A.A.O.G* 1(2): 9-30.