

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدي بالأغواط
UNIVERSITE AMMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT des Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : chimie organique appliquée

Présenté Par : Dahbi Abdelwahab

Abdellaoui Belkheir

THEME

Etude des composés phénoliques de *Zizyphus lotus "Sedra "* de Laghouat

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

M^r. SAIDAT Boubaker

Pr

Président

M^{me}. HAMIA Chahrazed

M.C.B.

Examinatrice

M^{me}. HADBAOUI Zineb

M.C.B

Rapportrice

Année Universitaire : 2019 - 2020

Remerciements

En premier lieu, nous remercions le bon Dieu le tout puissant qui nous a donné la volonté, la patience et le courage de réaliser ce travail. Nous tenons à exprimer notre gratitude et nos vifs remerciements à notre rapportrice Mme **Hadbaoui** , pour ses conseils, sa disponibilité et son soutien qui furent précieux et son encouragement pour réaliser ce travail.

Nous tenons aussi à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail, Nos remerciements s'adressent aussi à nos enseignants du Département de sciences matière.

Bien entendu, nos remerciements vont également à nos collègues pour les beaux moments.

A cause des circonstances actuelles du virus COVID19 nous n'avons pu travailler comme prévu

Dédicace

*Je dédie ce travail à la
mémoire de ma mère qui
restera toujours dans mon cœur
et à la miséricorde de Dieu.*

A mon cher père

*A mes frères et ma sœur
qui n'ont pas cessé de m'encourager et toute la famille
(Hadbaoui et Dahbi et Ladjal) et tous mes amis.*

Abdelwahab



Dédicace

Je dédie ce travail

*A ma chère mère RIME et mon cher père MOULOUE pour
leur soutien et leur ssacrifices durant mes études*

A toutes mes sœurs

A mes très chers frères

A ma femme

A toute la famille ABDELLAOUI

A BEN KAMRI AHMED LAMIN et tous mes amis

Belkhir



Liste des figures

Figure 1: Morphologie générale de <i>Zizyphus lotus</i>	5
Figure 2: Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	5
Figure 3 : Fruit de <i>Zizyphus lotus</i>	6
Figure 4 : Fleur de <i>Zizyphus lotus</i>	6
Figure 5 : Répartition de <i>Zizyphus.L</i> dans le monde.	7
Figure 6 : Structures chimiques de principaux polyphénols.	12
Figure 7 : Schémas des propriétés des flavonoïdes.	16
Figure 8 : Préparation des poudres de feuilles, pulpes et noyaux de <i>Zizyphus lotus</i>	18
Figure 9 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique.	23
Figure 10 : La courbe d'étalonnage de quercétine.	25
Figure 11 : Variation de la teneur des polyphénols en fonction de la teneur en flavonoïdes (Acétone/eau).	26
Figure 12 : Variation de la teneur des polyphénols en fonction de la teneur en flavonoïdes (MeOH/eau).	26

Liste des tableaux

Tableau 1 : Teneurs en métabolites primaires de la pulpe fraîche du <i>Zizyphus lotus</i>	8
Tableau 2 : Composition en métabolites secondaires des différents organes du <i>Zizyphus lotus</i>	9
Tableau 3 : Propriétés médicinales de <i>Zizyphus lotus</i>	10
Tableau 4 : Les principales classes de composés phénoliques.	13
Tableau 5 : Principales classes des flavonoïdes	14
Tableau 6 : Réactifs chimiques utilisés.	19
Tableau 7 : Etat physique, couleurs et rendements des extraits phénoliques.	22
Tableau 8 : Teneur en flavonoïdes de <i>Zizyphus lotus</i>	25

Liste des abréviations

V/V : Rapport volume/volume.

EAG : Equivalent en acide gallique.

EQ : Equivalent en quercétine.

MeOH : Méthanol.

MS : Matière séché.

UV : Ultraviolet.

Sommaire

Introduction générale	2
Partie I :Etude bibliographique	
1 Généralités sur <i>Zizyphus lotus</i>	5
1.1 Présentation de <i>zizyphus lotus</i>	5
1.2 Classification botanique	7
1.3 Origine et répartition	7
1.4 Dénomination vernaculaire	8
1.5 Composition biochimique.....	8
1.5.1 Métabolites primaires.....	8
1.5.2 Métabolites secondaires.....	8
1.6 Ravageurs et maladies de <i>Zizyphus lotus</i>	9
1.7 Les propriétés médicinales de <i>Zizyphus lotus</i>	9
1.8 Importance économique et environnementale de <i>Zizyphus lotus</i>	10
2 Les polyphénols.....	11
2.1 Structures chimiques et classification	11
2.2 Les flavonoïdes :	13
2.2.1 Structures et classification des flavonoïdes :	13
2.3 Localisation.....	14
2.4 Distribution	15
2.5 Propriétés des flavonoïdes	15
Partie II : partie expérimentale	
1 Matériels et méthodes	18
1.1 Matériels	18
1.1.1 Matière végétale.....	18
1.1.2 Réactifs chimiques	19
1.2 Méthodes.....	19

1.2.1	Le protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques	19
1.2.2	Quantification des composés phénoliques.....	20
2	Résultats et discussion	22
2.1	Dosage des composés phénoliques.....	22
2.2	Dosage des flavonoïdes	24
	Conclusion générale.....	28
	Références bibliographiques	29

Introduction générale

Introduction générale

Le développement durable d'un milieu naturel repose avant tout sur une gestion raisonnée des ressources naturelles : le sol, la végétation et l'eau. Les espèces forestières font partie des ressources naturelles que l'on doit protéger et mieux valoriser (**Bezzala, 2005**). Le bassin méditerranéen est assez diversifié en espèce végétales et présente un grand intérêt pour toute étude scientifique, vu sa grande richesse floristique (**Quézel et al., 1999**) . En Algérie, il y a une diversité floristique signifiante des groupements végétaux à besoin d'une valorisation, parmi lesquels, la végétation de Laghouat, qui présente un bon exemple d'étude de la diversité végétale.

Dans cette présente étude nous nous sommes intéressées à un arbre caractéristique du sud Algérien, à savoir *Zizyphus lotus*, connue sous le nom de Sedra. C'est un arbuste à feuilles caduques qui appartient à la famille des Rhamnacées. Elle est présente en abondance dans la région méditerranéenne à travers la Libye, l'Algérie, la Tunisie, et dans les pays d'Europe du sud comme l'Espagne. Plusieurs parties de *Zizyphus lotus* ont été utilisées par la médecine traditionnelle et ancestrale. Le fruit a été utilisé comme émollient, et un mélange de feuilles et fruits secs est appliqué par voie topique dans le traitement des furoncles, alors que l'écorce de la racine est connue pour son activité antidiabétique (**Benammar et al., 2010**)

L'homme puise ses aliments du règne végétal. Ces produits naturels lui apportent des macronutriments tels que les matières grasses, les sucres rapides, les sucres lents et les protéines dont il a besoins. Outre ces macronutriments énergétiques bien connus dans les aliments traditionnels, il existe d'autre substances dites secondaires qui sont de plus en plus populaires pour leurs effets bénéfiques sur la santé des consommateurs (**Mboagaou et al., 2013**). Les polyphénols sont des phytomicronutriments et généralement des pigments responsables de teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et des fruits. C'est une classe constitué d'environ 8000 composés, divisés en plusieurs catégories qui sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes. Des études épidémiologiques ont fortement suggéré que la consommation à long terme des régimes alimentaires riches en polyphénols végétaux offrira une certaine protection contre le développement des cancers, les maladies cardiovasculaires, du diabète, de l'ostéoporose et les maladies neuro dégénératives (**Rizvi et al., 2009**) .

A notre connaissance aucun travail n'a été publié sur les composés phénoliques des feuilles et des fruits (pulpes et noyaux) de *Zizyphus lotus* local (région de Taouiála)

A travers ce travail, nous nous intéressons dans un premier temps à donner quelques connaissances bibliographiques concernant le *Zizyphus lotus* ; ainsi la structure et les propriétés des composés phénoliques. La deuxième partie est une étude expérimentale qui comprend une partie décrivant le matériel ainsi que les méthodes et les protocoles expérimentaux utilisés pour la préparation des extraits phénoliques de *Zizyphus lotus*. Ensuite, on s'intéresse à l'analyse des résultats obtenus et une discussion qui mettra l'accent sur leur signification par rapport aux données de la littérature.

Enfin, le manuscrit se terminera par une conclusion générale qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail.

Partie I :Etude bibliographique

1 Généralités sur *Zizyphus lotus*

1.1 Présentation de *zizyphus lotus*

Le jujubier (*Zizyphus lotus*) est un arbuste fruitier, épineux appartenant à la famille des Rhamnacées. Communément appelé en Afrique du Nord "Sedra" (Borgi et al ., 2007(a)) . Il forme des touffes de quelques mètres de diamètres pouvant atteindre 2m de haut (Figure 1).



Figure 1: Morphologie générale de *Zizyphus lotus*.

Les feuilles sont petites, alternes, obtuses, crénelées, à trois nervures, glabres, faiblement rigides, de 7 à 9 mm de large et de 9 à 13 mm de long, à pétiole court (Ghedira, 2013) (Figure 2).



Figure 2: Feuilles de *Zizyphus lotus*.

Les fruits sont des drupes sphériques dont les noyaux osseux biloculaires, petits et ronds sont recouverts d'une pulpe demi-charnue, très vite sèche, riche en sucre. (Figure 3).



Figure 3 : Fruit de *Zizyphus lotus* .

Les fleurs sont solitaires ou groupées avec un seul pédicelle court. Le calice est en forme d'entonnoir et pentamère. La corolle est petite à cinq pétales, cinq étamines épipétales avec deux styles courts (Ghedira, 2013) (Figure 4).



Figure 4 : Fleur de *Zizyphus lotus*.

1.2 Classification botanique

La position systématique de *Zizyphus lotus* selon **Cronquist (1981)** est la suivante :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Sous-famille	Paliureae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i>

1.3 Origine et répartition

Le genre *Zizyphus* englobe environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères (**Bossard ; Cuisance, 1984**). C'est une espèce méditerranéenne d'origine moyen-orientale. Il est très répandue dans les régions tropicales et régions subtropicales : Asie, Afrique, Amérique tropical et en Europe également au sud du Portugal, Chypre, Grèce et l'Espagne, des parties de l'Italie et la Sicile et en Provinces, France. Le *Zizyphus* est présent en abondance dans la région Méditerranéenne, à travers la Libye au Maroc, l'Algérie, Et il est répondu aussi en Mauritanie et Niger. (Figure 5) (**Benammar et al, 2010**)

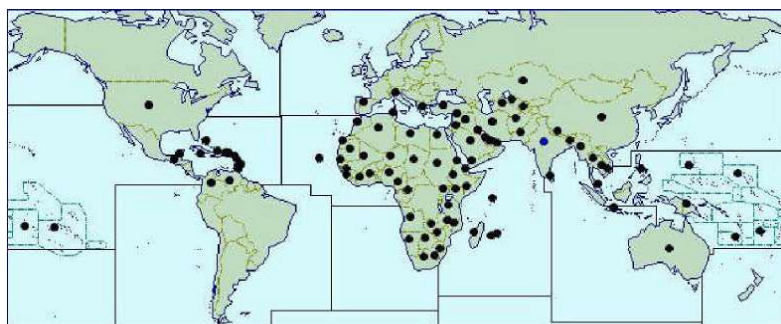


Figure 5 : répartition de *Zizyphus.L* dans le monde.

1.4 Dénomination vernaculaire

Les français le nomment jujubier, *Zizyphus lotus* ou jujubier sauvage. En Arabe il est nommé, Sedra (cité dans le CORAN), Azar ou N'beg pour le fruit En berbère, tazuggwart (Bellahdar, 1997) .

1.5 Composition biochimique

Les études photochimiques menées sur *Zizyphus lotus* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires.

1.5.1 Métabolites primaires

Bellahdar (1997) a rapporté que la pulpe fraîche des fruits de *Z.lotus* est riche en eau et en glucide. Dans le tableau 1 sont indiqués les principaux constituants et leurs quantités dans 100 g de pulpe fraîche.

Tableau 1 : Teneurs en métabolites primaires de la pulpe fraîche du *Zizyphus lotus*.(Belkadi, 2016)

Principale constituant	100g de pulpe fraîche
Protides	1.2g
Lipides	0.3g
Glucide	32g
Valeurs calorifique	135 calories, ce chiffre se voit augmenter à 341 calories dans la pulpe sèche.

1.5.2 Métabolites secondaires

Zizyphus lotus est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides (Catoire et al., 1999).

Les principaux métabolites secondaires identifiés dans les différents organes de *Zizyphus lotus* sont groupés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Zizyphus lotus*.

Organe végétale	Composition chimique	Références
Fruits	-flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponine	(Borgi et al ., 2007(b)).
Feuilles	flavonoïdes, tanins, alcaloïdes saponine de type dammarane : - Jujuboside B - Jujubogenin glycoside - dérivé sulfaté de jujubosaponine	(Borgi et al. 2007(b)). (Macuik et al. 2004).
Ecorce des racines	-flavonoïdes, saponines de type damarane -tanins -alcaloïdes cyclopeptidiques lotusines A-G	(Borgi et al. 2007(a)). (Borgi et al. 2007(b)).

1.6 Ravageurs et maladies de *Zizyphus lotus*

Peu de maladies et de ravageurs attaquent le Jujubier. C'est la mouche du jujube (voisine de la Cératite) qui cause les plus graves dégâts sur la récolte (surtout les variétés chinoises). Un Kermes, *coccus conchaeformis*, est lui aussi assez commun, il se traite aux insecticides (pyrèthre, roténone) (CATOIRE et al., 1999) .

1.7 Les propriétés médicinales de *Zizyphus lotus*

Zizyphus lotus est une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle. Les principales propriétés citées dans la bibliographie consultée sont indiquées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Propriétés médicinales de *Zizyphus lotus*.

Organe	Effets	Références
Feuilles	-Soin des furoncles et les abcès (cataplasme).	Bellahdar 1997
	-Effets analgésiques et une importante activité antiulcérogénique attribués à leur contenu en principes actifs et la présence de tanins et de flavonoïdes connus par leurs effets gastroprotecteurs.	Borgi et a 2007(a) Borgi et al 2008.
Racines	-Traitement du diabète dans la médecine traditionnelle.	Ghedira et al 1995
	-Le jus qui serait efficace dans les traitements de leucomes. -Soins des affections du tube digestif et du foie.	Baba Aissa 1999.
	-Activité anti-inflammatoire significative par les flavonoïdes et les saponines.	Borgi et Chouchane 2006
Fruits	-Traitement des irritations broncho-pulmonaires.	Baba Aissa 1999 Borgi et al 2007
	-Associées aux fruits du jonc, à la lavande, au styles de mais, au chiendent et aux fleurs de figuier de Barbarie, traite les cystites et contre les calculs rénaux.	Bellahdar 1997

1.8 Importance économique et environnementale de *Zizyphus lotus*

Sur les terres agricoles, les touffes de jujubier sont généralement utilisées pour la confection des enclos autour des habitats, des parcelles cultivées et parcs à bétail et comme source de bois de chauffage. Les fruits sont commercialisés pour la consommation humaine et pour leurs propriétés médicinales (**Bamouh, 2002**) .

Dans les terrains accidentés et ou exposés à l'érosion, les touffes de jujubier jouent un rôle très important dans l'équilibre naturelle (**Bamouh, 2002**) .

Aussi, le jujubier a été utilisé pendant longtemps comme ceinture verte protectrice contre les courants d'eau (**Bamouh, 2002**) .

2 Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire (Edeas, 2007) .

Ils participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement (Urquiaga et Leighton, 2000) .

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux, bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al., 2005) .

2.1 Structures chimiques et classification

La structure chimique est identique à tous les polyphénols : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés (Boros, 2010) . Une classification de ces substances a été proposée par Harborne en 1980 et a distingué les différentes classes de polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base (Figure 6).(Harborne, 1980)

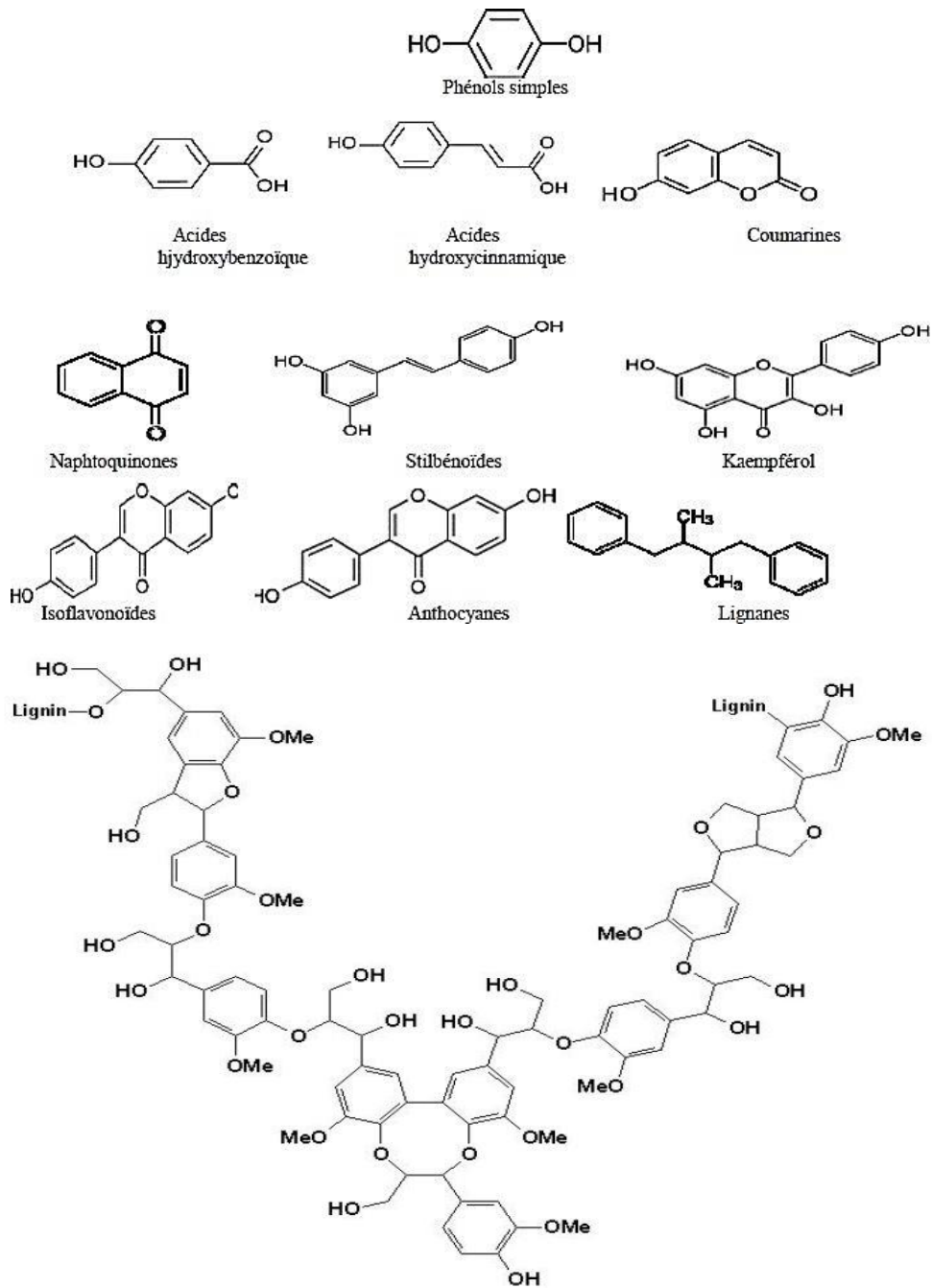


Figure 6 : Structures chimiques de principaux polyphénols (Boros et al., 2010).

Les principales classes sont largement répandues :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques).
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines.

Les principales classes de composés phénoliques sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Les principales classes de composés phénoliques (Macheix et al, 2005).

Squelette carboné	Classe	Composés	Origine
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	β-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques Coumarine	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre, pomme Citrus
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes -Flavonols -Anthocyanes -Flavanols -Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Ponune, raisin Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignine		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tanins		Raisin rouge, kaki

2.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus étudié des polyphénols. Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'organe, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus : (flavus=jaune) (Piquemal, 2008).

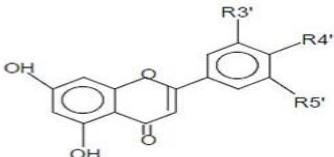
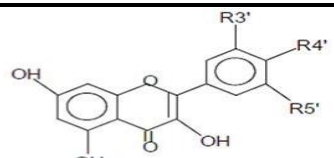
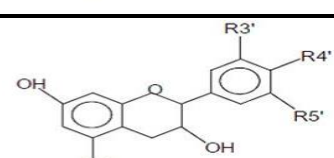
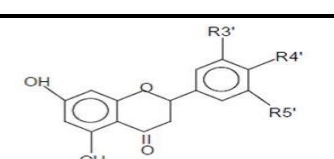
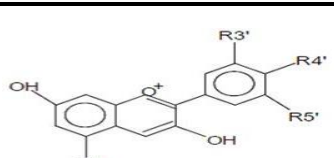
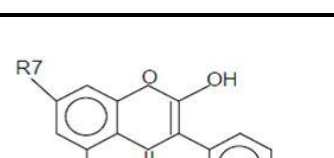
2.2.1 Structures et classification des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi l'hétérocycle (C) (Erdman et al, 2007).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3- C6 (Emerenciano et al., 2007) en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Belkadi. N,2016).

Les principales classes de flavonoïdes sont indiquées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Principales classes des flavonoïdes (Narayana et al., 2001).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavnaols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Gln	OH	Daïdezine

2.3 Localisation

Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnement. Ces substances sont accumulées dans différentes

parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (Hutzler et al., 1998) .

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles (Piquemal, 2008) .La répartition de ces composés montre des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement. Ainsi, les flavonoïdes qui ont une localisation épidermique ont un rôle d'écran vis-à-vis des rayonnements solaires(UV), tandis que ceux qui sont impliqués dans les mécanismes de défense ont plutôt une localisation sous épidermique (Boudet, 2000) .

2.4 Distribution

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens. Ils peuvent aussi être rencontrés dans certains boissons et chez certains fourrages (ex : trèfle) (Urquiaga et Leighton, 2000) .

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eu une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (Lahouel, 2005 ; Piquemal, 2008) .

2.5 Propriétés des flavonoïdes

Les propriétés des flavonoïdes sont schématisées sur la figure 7.

- Propriétés anti radicalaires
- Propriétés anticancéreuses
- Propriétés antiallergiques
- Propriétés antibactériennes
- Propriétés anti inflammatoires

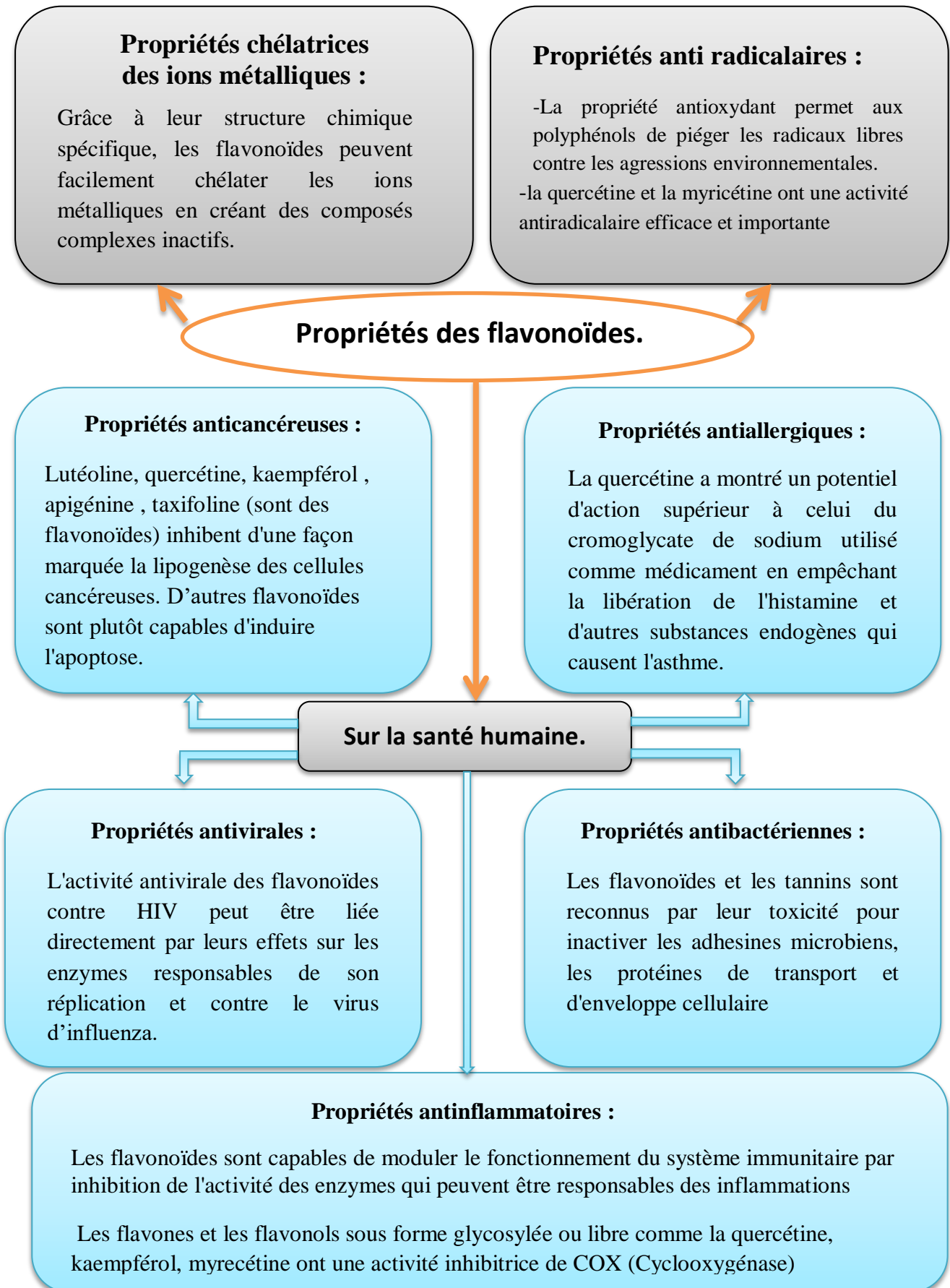


Figure 7 : Schémas des propriétés des flavonoïdes (Zeghad, 2009).

Partie II : partie expérimentale

1 Matériels et méthodes

1.1 Matériels

1.1.1 Matière végétale

Les feuilles et les fruits (pulpes et noyaux) de *Zizyphus lotus* ont été échantillonnés en mois de novembre 2019 à la région ouest de Laghouat (Taouiala.)

Les feuilles, les pulpes et les noyaux sont séchés pendant une semaine et réduits en poudre, puis tamisée à la même granulométrie, après ils ont été conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité. La poudre ainsi obtenue a été utilisée pour l'extraction. (Figure 8)

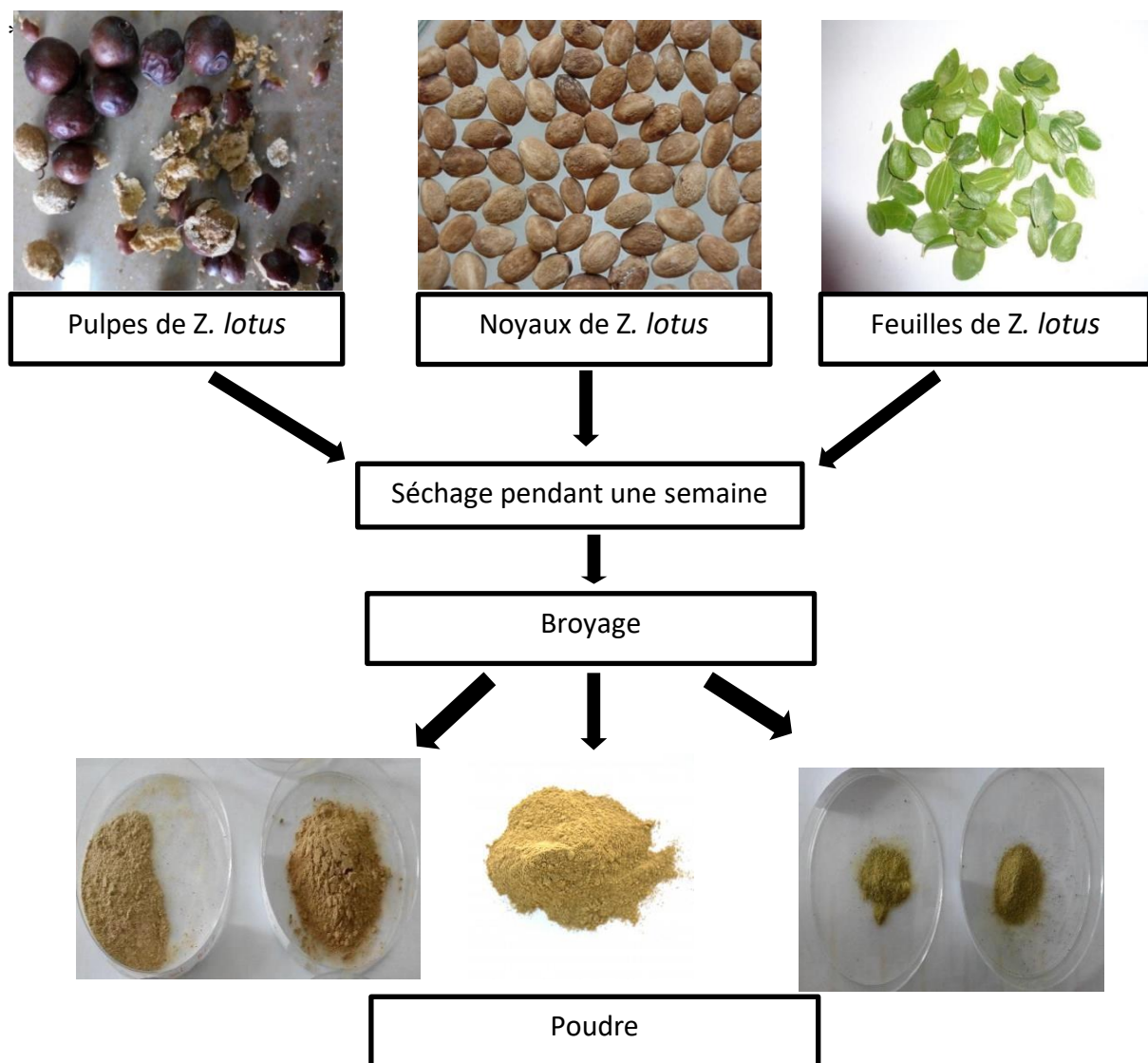


Figure 8 : Préparation des poudres de feuilles, pulpes et noyaux de *Zizyphus lotus*.

1.1.2 Réactifs chimiques

Tous les produits utilisés dans ce travail sont d'un grade analytique élevé Tableau 6.

Tableau 6 : Réactifs chimiques utilisés.

Produits	Marque
Méthanol, Carbonate de sodium Na_2CO_3 ; Acétone; Acétate d'éthyle, Acide gallique ; réactif de Folin-Ciocalteu ; Quercétine;	Sigma-Aldrich
Sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)	Biochem

-Nous avons utilisé un spectrophotomètre **UV-1601** de type **SHIMADZU**, et les résultats sont traités par **Microsoft Office Excel 2013**

1.2 Méthodes

1.2.1 Le protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques

Nous avons utilisé la méthode d'extraction par macération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

Nous avons soumis 10 g de chaque poudre délipidée des feuilles ou fruits (pulpes et noyaux) de *Zizyphus Lotus* à une macération dans 100 ml d'un mélange hydro-alcoolique (MeOH/eau) (80/20, V/V). La macération pendant quarante-huit heures à température ambiante, et à l'abri de la lumière. La même opération est faite avec le solvant acétone/eau (70/30, V/V).

Une fois le temps de macération est écoulé, nous avons procédé à la filtration de nos extraits. Par la suite, nous avons soumis le filtrat obtenu à une évaporation sous vide, à une température de 50°C et à une vitesse de 150 tours/min.

Afin de récupérer les composés phénoliques, on procède à une extraction liquide-liquide avec l'acétate d'éthyle. Cette étape est répétée trois fois, afin de récupérer le maximum de phénols totaux.

Pour éliminer l'eau pouvant se trouver dans les phases organique, nous avons ajouté quelques grammes de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4). Ces fractions sont filtrées, afin d'éliminer les cristaux de Na_2SO_4 , formés avec de l'eau.

La phase organique est évaporée, à sec, sous vide, à une température de 50°C et à une vitesse de 150 tours/min. En une dernière étape, le résidu sec, est solubilisé dans 5 ml de MeOH, puis conservé au réfrigérateur à 6°C jusqu'à son analyse.

1.2.2 Quantification des composés phénolique

1.2.2.1 Quantification des polyphénol totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux de nos extraits est une analyse d'extrême importance compte tenu de leurs multiples rôles dans l'élaboration de la saveur et dans la stabilité de ces extraits. C'est pour cette raison que leur taux est considéré comme un critère de qualité.

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *Zizyphus Lotus* a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode de Folin-Denis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est formé d'acide phosphotungestique $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_4$. En milieu alcalin, lors d'une oxydation, les polyphénols réduisent ces deux acides en oxydes de tungestène W_8O_{23} et de molybdène, cette réduction se traduit par l'apparition d'une coloration bleue foncée.

Ainsi, une lecture de la densité optique à 760 nm permet de déterminer la concentration des polyphénols, en se référant à une courbe étalon dressée à partir d'une série de solutions standard de l'acide gallique ayant des concentrations comprises entre 0.06 et 0.30 g/l. 100 μl de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500 μl du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué).

Après incubation pendant 2 minutes, 2 ml de carbonates de sodium à 10% ont été ajoutées, puis les solutions ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre (Djeridane.2004).

1.2.2.2 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont quantifiés par la méthode adaptée de Lamaison et Carnet (1990), avec le réactif de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), qui va réagir avec les flavonoïdes en produisant un complexe rose dont son absorption maximale est enregistrée à 430 nm contre un blanc. Les différents échantillons ont été traités de la même façon que la courbe d'étalonnage, ainsi les teneurs en flavonoïdes ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage.

Pour la préparation de la gamme d'étalon, une série de dilution allant de 0,002 à 0,02 g/l de la quercétrine (préparée dans le méthanol). Par la suite, dans un tube à essai on met un volume de 1 ml de la quercétrine et 1 ml de la solution de chlorure d'aluminium (2%). On laisse incuber pendant 15 min à température ambiante. La lecture est effectuée à 430 nm par un spectrophotomètre UV/Visible et les valeurs des absorbances trouvées pour chaque solution sont utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage. Les échantillons sont traités de la même manière.

2 Résultats et discussion

2.1 Dosage des composés phénoliques

La préparation des extraits à partir de *Zizyphus lotus* a été effectuée selon la méthode adaptée par l'équipe de chimie organique appliquée du laboratoire qui est très recommandée pour l'extraction des polyphénols et notamment les flavonoïdes. Cette extraction a été effectuée en deux grandes étapes, la première est une extraction par un mélange hydro-méthanolique (8/2 V/V) ou hydro-acétonique (7/3 V/V) pour obtenir initialement l'extrait brut contenant tous les composés extractibles par ce système de solvants y compris les composés phénoliques. Cependant la deuxième étape a été réalisée par une extraction liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle, afin de séparer les composés phénoliques de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction et donc selon leur degré de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et tri-glycosylés). De ce fait, six extraits ont été obtenus. La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait par rapport au poids de matière sèche sont représentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 7).

Tableau 7 : Etat physique, couleurs et rendements des extraits phénoliques.

Extraits	couleur	Aspect	Extraits bruts (mg)		Extraits phénoliques (mg EAG/g MS)	
			MeOH / eau	Acétone / eau	MeOH / eau	Acétone / eau
Feuilles	vert	liquide	102	93	2.54±0.11	1.91±0.08
pulpes	Jaune verdâtre	visqueux	9.6	13	0.32±0.06	0,31±0.04
noyaux	Jaune verdâtre	visqueux	8.8	7.6	0.44±0.09	0.27±0.07

Les extraits phénoliques ainsi obtenus présentent généralement un aspect visqueux de couleur jaune verdâtre pour les pulpes et les noyaux et un aspect liquide de couleur vert pour les feuilles. (Tableau 7). Il est constatable que la plus importante quantité du résidu sec a été trouvée dans les feuilles quelque soit le solvant utilisé.

On remarque d'après les résultats du tableau précédent que la teneur en phénols totaux est varié en même sens pour les deux solvants, dont les feuilles présentent le taux le plus élevé (93 et 102 mg) suivi par les pulpes (9.6 et 13 mg) tandis que, la teneurs la plus basse est remarquée dans les noyaux (7.6 et 8.8 mg).

La quantité des composés phénoliques dans les extraits bruts est plus importante en utilisant le MeOH comme solvant qu'en utilisant l'acétone à l'exception de pulpes où le taux de l'extrait acétoniques est plus élevé. La teneur élevé en phénols totaux dans les extraits acétoniques des pulpes peut-être expliquée par la présence des tanins dans cette partie de *Zizyphus lotus*, car cette classe des phénols est extractible par le système de solvant acétone : eau (7/3 V/V) .

En comparaison avec d'autres études effectuées dans notre laboratoire, sur le pistachier Atlantic (Hamia, 2005) et sur la citrouille (Benalia., 2016), il apparaît que le rendement de l'extrait brut est supérieur dans ce présent travail.

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des *Zizyphus lotus* (feuilles, pulpes et noyaux), un dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu et on utilisant L'acide gallique comme standard (Figure 9).

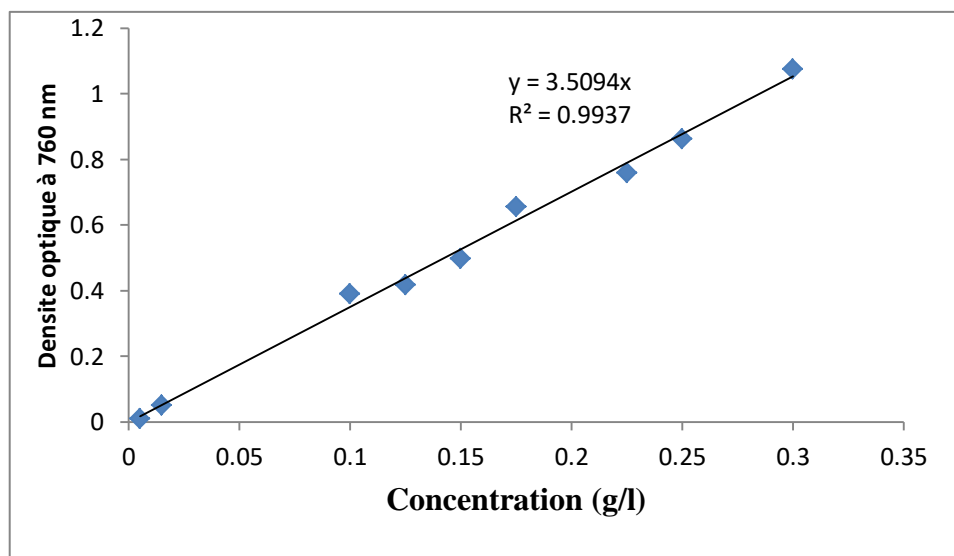


Figure 9 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique.

D'après la synthèse de l'ensemble de résultats obtenus lors de la quantification des phénols totaux obtenus par la macération hydro-alcoolique (MeOH/Eau : 8/2 v/v), on peut constater que les teneurs de ces composés varient entre 0.27 et 2.54 mg EAG/ g MS. Les taux des composés phénoliques les plus élevés ont été détectés dans les feuilles, tandis que, la teneur la plus basse est remarquée dans les pulpes pour le solvant MeOH/Eau et dans les noyaux pour le système Acétone/Eau (Tableau 7). En outre, nous avons enregistré que les extraits acétonique qui ont donné les rendements les plus importants en résidu sec (Tableau 7) ont offert aussi des teneurs importantes en phénols totaux. Mais si on compare les teneurs en phénols totaux des pulpes de deux solvants utilisés qui sont voisines (0.3 mg EAG/ g MS), on trouve que l'extrait de pulpes Acétone /Eau a fourni un résidu sec 1.5 fois plus supérieur que celui de l'extrait de pulpes MeOH /Eau. Ceci, pourrait être expliqué par la nature des composés phénoliques de notre matière végétale.

La forte teneur en phénols totaux remarquée dans les extraits méthanoliques, Cependant, une telle extraction par le méthanol ne donne pas que les polyphénols mais probablement d'autres substances non phénoliques telles que les sucres, les protéines et les pigments qui peuvent interférer pendant le dosage des phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu.

Il faut noter ici que les valeurs obtenues des teneurs en composés phénoliques totaux ne reflètent pas les quantités réelles de ces substances dans les organes investiguées car il y a plusieurs facteurs qui influent sur le rendement d'extraction en l'occurrence, le type, l'acidité et le volume du solvant, la température et le temps du contact avec la matière première ainsi que le mode d'extraction (Benalia,2016).

2.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium en utilisant la quercétine comme standard. (Figure 10)

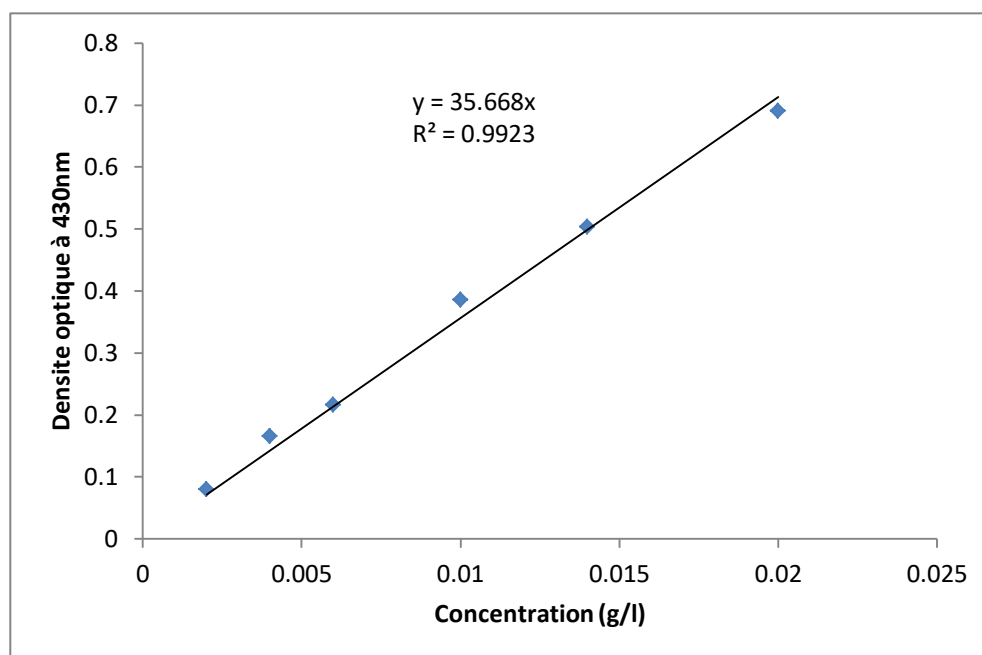


Figure 10 : La courbe d'étalonnage de quercétine.

Tableau 8 : Teneur en flavonoïdes de *Zizyphus lotus* .

Extraits	Méthanol/eau (mg EQ/g MS)	Pourcentage (%)	Acétone/eau (mg EQ/g MS)	Pourcentage (%)
Feuille	1.92±0.07	76%	1,40±0.03	73%
Pulpes	0.3±0.04	95%	0.25±0.06	80%
Noyaux	0,16±0.08	38%	0,13±0.09	47%

A la lumière des résultats consignés dans le Tableau.8, on observe que les quantités des flavonoïdes dans les différentes parties de l'arbre sont inférieures à celles des phénols totaux. La détermination quantitative des flavonoïdes totaux révèle que tous les extraits présentent une teneur très importante de flavonoïdes. Les pulpes présentent le pourcentage de flavonoïdes par rapport aux phénols varié entre (80% et 95%) suivi par les feuilles (73% et 76%) puis les noyaux(47% et 38%).

Dans les deux systèmes de solvants utilisés (MeOH/eau) et (Acétone/eau), on remarque que la teneur en flavonoïdes équivalent de quercétine dans les trois échantillons est classé suivant l'ordre décroissant : feuilles > pulpes > noyaux.

Toutefois, il est important de signaler que l'utilisation de différents solvants d'extraction, réduit la fiabilité de comparaison entre les deux études.

Egalement nous avons représenté la variation de la teneur des polyphénols en fonction de la teneur en flavonoïdes (Figure 11 et 12). D'après ces graphes, il est clair qu'il existe une bonne corrélation positive entre la teneur en phénols totaux et le taux des flavonoïdes ($R^2 = 0.99$) et ($R^2 = 0.98$) de solvant Acétone/Eau et MeOH/Eau respectivement. Ce résultat peut être traduit par le fait que la quantité des flavonoïdes varie proportionnellement avec tout le contenu en polyphénols d'un organe à un autre et que les extraits étudiés renferment en général un matériel polyphénolique riche en composés flavonoïdiques.

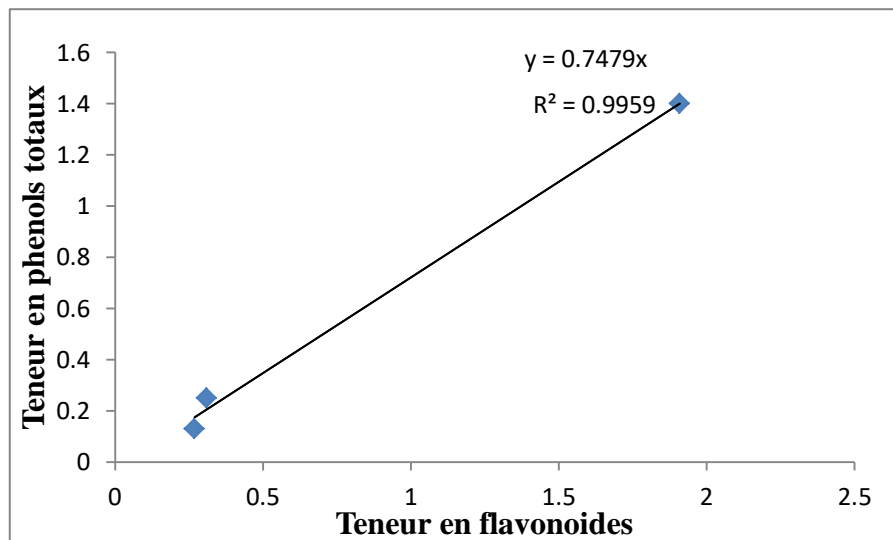


Figure 11 : Variation de la teneur des polyphénols en fonction de la teneur en flavonoïdes (Acétone/eau).

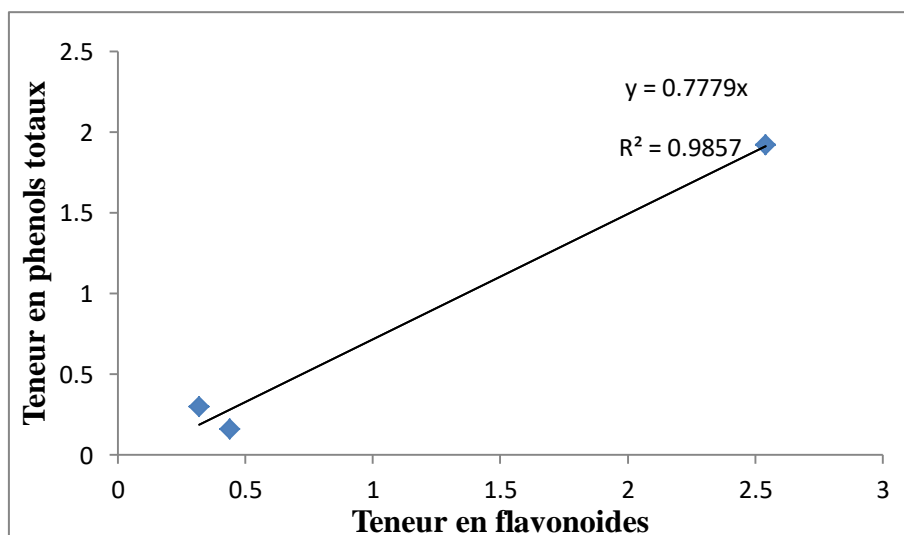


Figure 12 : Variation de la teneur des polyphénols en fonction de la teneur en flavonoïdes (MeOH/eau).

Conclusion générale

Conclusion générale

La présente étude a pour objectif l'étude d'un arbre local le « Sedra » (*Zizyphus lotus*) provenant de la région de Sud Algérien (Laghouat) à travers leurs teneurs en composés phénoliques totaux ; ainsi les flavonoïdes.

Pour estimer la teneur en phénols totaux dans les variétés étudiées, nous avons utilisé la méthode Singleton et Ross avec le réactif de Folin Ciocalteu, les résultats nous a confirmé que les espèces étudiées sont riches en phénols totaux 0.32mg/g MS et 2.54 mg/g MS pour le solvant MeOH/eau 0.27 mg/g et 1.91 mg/g pour le acétone/eau EAG.

Cependant, la détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que tous les extraits sont une source prometteuse en flavonoïdes avec des teneurs allant de 0.16 à 1.92 mg EQ / g MS. Cependant, l'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une très bonne corrélation linéaire ($R^2 = 0.99$) entre la teneur des extraits en flavonoïdes et en composés phénoliques. Ceci pourra être expliqué par le fait que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols totaux.

Ce travail est une contribution à la connaissance des composés phénoliques de l'arbre de *Zizyphus lotus*, de même à la connaissance des ressources de la flore locale en substances d'intérêt biologique.

A cause des circonstances actuelles du virus COVID19 nous n'avons pu travailler comme prévu

Au terme de ces travaux nous considérons que le patrimoine national floristique recel des espèces ayant des potentialités remarquables tant au point de vu alimentaire, pharmacologique ou cosmétique. Les substances ou produits qui en sont extraits possèdent une forte valeur ajoutée et peuvent contribuer au développement économique. Tout d'abord l'étude bibliographique sur ces petits fruits a montré qu'il reste beaucoup de chose à faire, soit du point de vue de la caractérisation de ces espèces ou du point de transformation. Elle a montré aussi que ces fruits sont consommés par les êtres humains depuis longtemps là où elles poussent dans le monde et ne présentent aucune propriété antinutritionnelle ou toxique empêchant leurs utilisation alimentaire, pharmacologique ou cosmétique.

Références bibliographiques

- Baba Aissa F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident, ed. EDAS, p.144-146.
- Bamouh A. (2002).** La lutte chimique contre le jujubier. Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), ed. DERD Rabat, n° 94, p. 1, 4.
- Belkadi. N, Hadj-Ali Imane.(2016).** Etude morphométrique et essai de germination des graines de jujubier (*Zizyphus lotus*) provenant du sud Algérien. Extraction et dosage de 3 classes de flavonoïdes et estimation de l'effet de la poudre des fruits vis-à-vis de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae). Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou; (Mémoire master)
- Bellakhdar J. (1997).** La Pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoir populaires - Saint -Etienne, ed. TEC et DOC. Ibis press : Paris, p. 464-465.
- Bellakhdar J. (1997).** La Pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoir populaires - Saint -Etienne, ed. TEC et DOC. Ibis press : Paris, p. 464-465.
- Benalia .M.(2016).** Etude de la fraction lipidique de quelques graines de cucurbitacées Université Kasdi Merbah -Ouargla ;(thèse doctorat).
- Bennamar C., Hichami A., Yessoufon A., Simonin A.M., Allali M., Akhan N. (2010).** Complementary & alternative medicine, vol.10, p.54
- Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N. (2007(b)).** Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. Journal of Ethnopharmacology, n° 12, p.228-231.
- Borgi W., Chouchane N.(2006).** Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.). Revue des Régions Arides, p. 283-286
- Borgi W., Ghedira K., Chouchane N. (2007(a)).** Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. Fitoterapia, n° 78, p.16-19
- Boros B., Jakabova S., Dornyei A., Horvath G., Pluhar Z., Kilar F., Felinger A.(2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. Journal of Chromatography A, n°1217, p. 7972–7980

-Bossard R., Cuisance P.(1984). Arbre et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes, ed. Tec&Doc. Lavoisier. Paris, p.600.

-Boudet A. M. (2000). L'usine chimique. 9ème conférence de l'université de tous les savoirs. France, p. 1-16.

-Catoire C., Zwang H., Bouet C. (1999) Les jujubiers ou le Zizyphus fruits oubliés .article n°1.

-Cronquist A. (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Colombia university, p. 1256.

Djeridane.A.(2004) Investigation phytochimique de quelques plantes médicinales locales aux propriétés Antioxydantes et antiradicalaires Université Amar Telidji-Laghouat; (thèse magister)

-Edeas M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. Pharmacognosie, n° 5, p. 264-270.

-Ghedira K. (2013). *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. Ethnobotanique–monographie, vol.11, p.149-153.

Hamia.C.(2005) Polyphénols et Activités Antioxydantes du Pistachier de l'Atlas.Universite Amar Telidji-Laghouat; (Mémoire ingénieur d'état)

-Hutzler P., Fishbach R., HellerW., Jungblut T. P., Reuber S., Schmitz R., Veit M., Weissenböck G et Schnitzler J. P. (1998) Tissue localisation of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. Journal of experimental botany, vol. 49, n° 323, P. 953-965

-Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005) Les composés phénoliques : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques, ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, p.4-5.

-Maciuk A., Lavaud C., Thépentier P., Jacquier M-J., Ghédira K., Zèche-Hanrot. (2004) Four New Dammarane Saponins from *Zizyphus lotus*. Journal of Natural Products, n° 67, p. 1639-1643

- Mbaiogaou A., Hema A., Ouédraogo M., Pale E., Naitormbaide M., Mahamout Y., Nacro M. (2013)** Etude comparative des teneurs en polyphénols et en antioxydants totaux d'extraits de graines de 44 variétés de voandzou (*Vigna subserranea* (L.) verdcourt). International journal of biological and chemical sciences, vol. 7, n° 2, P.861.
- Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R et Krishna D. R.(2001)** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology, vol 33, p. 2-16
- Piquemal G. (2008)** Les flavonoïdes (en ligne) : [http://www.detoursante.com/index.php ? Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215'](http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215)
- Quezel P., Santa S. (1962)** Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome2, ed. Centre national de la recherche. Paris, p.565
- Rizvi S.I., Panders K.B. (2009)** Polyphénols végétaux comme antioxydants alimentaires dans la santé humaine et la maladie. Oxydative médecine and cellular longivity, vol. 2, n° 5, p.270-278.
- Scalbert A., Williamson G. (2000)** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. Journal of Nutrition, vol. 130, p. 2073 – 2085.
- Urquiaga I. et Leighton F. 2000.** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological Research, vol. 33, n° 2, p. 55-64.
- Zeghad N. (2009)** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de Doctorat, Université Mentouri, Constantine, Algérie, p.96.

ملخص

توجد شجرة السدره بكثرة في الصحراء مما حفزنا على إجراء دراسة خصت الاوراق و لب الثمرة و النواة التي لا نستعملها.

أظهرت الدراسة من خلال استخلاص المركبات الفينولية باستعمال المذيبين ميثانول/ماء و اسيتون/ماء ان اوراق السدره غنية بهذه المركبات بنسبة 1.92 مغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المادة الجافة يليه نواة الثمرة بنسبة 0.44 مغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المادة الجافة اما اللب فيحتوي على نسبة 0.33 مغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المادة الجافة.

ان نسبة الفلافونويد عالية جدا في المركبات الفينولية تتراوح ما بين 0.16 الى 1.92 مغ مكافئ كرسيتين/غ من المادة الجافة. هذه النتائج تبين أن الفلافونويد الجزء الأكثر تواجدا بالنسبة للمركبات الفينولية

الكلمات المفتاح: شجرة السدره ,المركبات الفينولية, فلافونويد.

Résumé

L'arbre Sedra (*Zizyphus lotus*) se trouve en abondance dans le désert, ce qui nous a motivés à mener une étude qui spécifiait les feuilles, la pulpe du fruit, et le noyau que nous n'utilisons pas.

L'extraction des composés phénoliques à l'aide des solvants méthanol / eau et acétone / eau montre que les feuilles de Sedre sont riches en ces composés par 1,92 mg équivalent acide gallique / g de matière sèche, suivi par le noyau du fruit à 0,44 mg équivalent acide gallique / g de matière sèche, tandis que la pulpe contient un taux de 0,33 mg équivalent acide gallique / g de matière sèche.

Le pourcentage de flavonoïdes est très élevé dans les composés phénoliques allant de 0,16 à 1,92 mg d'équivalent quercétine / g de matière sèche. Ces résultats montrent que les flavonoïdes sont la partie la plus abondante dans des composés phénoliques.

Mots clés: arbre de sedra, *Zizyphus lotus*, composés phénoliques, flavonoïdes.

Abstract

The Sedra tree (*Zizyphus lotus*) is found in abundance in the desert, which motivated us to conduct a study that specified the leaves, fruit pulp, and the kernel we don't use.

The extraction of phenolic compounds using methanol / water and acetone / water solvents shows that Sedra leaves are rich in these compounds per 1.92 mg Gallic acid equivalent / g of dry matter, followed by the fruit stone at 0.44 mg Gallic acid equivalent / g of dry matter, while the pulp contains a level of 0.33 mg Gallic acid equivalent / g of dry matter.

The percentage of flavonoids is very high in phenolic compounds ranging from 0.16 to 1.92 mg of quercetin equivalent / g of dry matter. These results show that flavonoids are the most abundant part in phenolic compounds.

Key words: Sedra tree, *Zizyphus lotus*, phenolic compounds, flavonoids.