

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 عمّار تليدجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT  
كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم علوم المادة  
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



## ***Mémoire de Master***

**Domaine :** Sciences de la Matière

**Filière :** Chimie

**Option :** Chimie organique

**Présenté par :**  
**BEN YAGOUB Meriem**

### **THEME**

---

## **Étude phytochimique des extraits de l'espèce *Zizyphus lotus* (région de Laghouat)**

---

*Soutenu publiquement devant le jury composé de :*

Mme. BOUZIANE Amel	MCB	Présidente
Mme. NOUREDDINE Asma	MCB	Examinatrice
Mme. HADBAOUI Zineb	MCB	Examinatrice
Mr. BAKCHICHE Boulanouar	Pr	Promoteur

**Année Universitaire 2022-2023**

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à : Mes très chers parentes*

*Mon frère : Abdelkader*

*Mes chères sœurs : Fatima, Soulef, Itissam, Asmaa, Radjaa, Assia*

*Tout ma famille : Ben yagoub*

*Mes amies : Ikram Choucha , Boudarbala Khaoula, Bedrani Messouda, Seriou*

*Naoul.*

# Remerciements

*On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire .*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide de l'encadrement de Mr . Bakchiche Boulanouar, je le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire .*

*Mes remerciements et ma sincère gratitude s'adressent à la présidente du jury Mme. Bouziane Amel , l'examinatrice Mme. Noureddine Asmaa et Mme. Hadbaoui Zineb qui ont accepté de nous honorer par leur présence en tant qu'examinatrices de ce modeste travail.*

*Mes remerciements s'adresse à Mme. Benchikh Imane pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.*

*Mes remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges professionnelles.*

## Liste des abréviations

---

**DMSO:** diméthylsulfoxyde

**DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EC50:** Concentration effective à 50%

**FeCl<sub>3</sub>:** Chlorure de fer

**FRAP :** Capacités réductrices ferriques d'antioxydants

**HCl :** Acide chlorhydrique

**IC50:** Concentration inhibitrice à 50%

**mg EAG/g d'extrait:** milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait

**mg EQ/g d'extrait :** milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait

**NaOH:** Hydroxyde de sodium

**NH<sub>4</sub>OH:** Hydroxyde d'ammonium

**PM:** Molybdate Phosphate

**R% :** Rendement

**TCP:** Teneur en composés phénoliques

## Liste des figures

---

	<b>Pages</b>
<b>Figure 1</b> : Différents parties de <i>Zizyphus lotus</i>	3
<b>Figure 2</b> : Structure de base des flavonoïdes	9
<b>Figure 3</b> : Structure des tanins condensés	11
<b>Figure 4</b> : Structure des tanins hydrolysable	11
<b>Figure 5</b> : structure de l'acide gallique	20
<b>Figure 6</b> : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.	22
<b>Figure 7</b> : structure de la quercetine	23
<b>Figure 8</b> : Courbe d'étalonnage de la quercetine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	24
<b>Figure 9</b> : Forme libre et réduite du DPPH	26
<b>Figure 10</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique	28
<b>Figure 11</b> : Formation et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H <sup>•</sup>	29
<b>Figure 12</b> : Pourcentage d'inhibition du ABTS par l'acide ascorbique	30
<b>Figure 13</b> : Principe du test FRAP	30
<b>Figure 14</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (test FRAP)	31
<b>Figure 15</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (test phosphomolybdate)	32
<b>Figure 16</b> : Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de l'extrait fruit de <i>Z. lotus</i>	40
<b>Figure 17</b> : Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de l'extrait de feuille de <i>Z. lotus</i>	40
<b>Figure 18</b> : Structure de la paroi bactérienne	42

## Liste des figures

---

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1.</b> Composition des différents organes du <i>Zizyphus lotus</i>	4
<b>Tableau 2 :</b> Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans le fruit de <i>Zizyphus lotus</i> .	12
<b>Tableau 3 :</b> Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans la feuille de <i>Zizyphus lotus</i>	13
<b>Tableau 4:</b> liste des produits chimiques utilisés	16
<b>Tableau 5 :</b> Quelques critères des souches bactériennes expérimentées	25
<b>Tableau 6 :</b> Aspects, couleurs et rendement des deux extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	34
<b>Tableau 7 :</b> Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires sur les différents extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	36
<b>Tableau 8 :</b> La teneur en composés phénoliques et flavonoïdes des deux extraits	37
<b>Tableau 9 :</b> Diamètres d'inhibition obtenus des extraits testés sur trois bactéries.	40
<b>Tableau 10:</b> EC <sub>50</sub> des tests DPPH, ABTS, FRAP et PM des deux extraits de <i>Z. lotus</i> .	47

	<b>Pages</b>
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction générale</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1: Généralités sur le <i>Zizyphus lotus</i></b>	
I.1. Description botanique	3
I.2. Classification botanique	4
I.3. Répartition géographique	4
I.4. Composition phytochimiques	4
I.5. Utilisations en médecine traditionnelle	5
I.6. Activités biologiques	5
<b>Chapitre 2 : Les substances bioactives des composés phénoliques</b>	
II.1. Les principes actifs	8
II.2. Les polyphénols	8
II.3 Les flavonoïdes	9
II.4. Les tanins	10
II.5. Localisation des composés phénoliques dans <i>Zizyphus lotus</i>	12
II.6. Activités pharmacologiques des composés bioactifs de <i>Zizyphus lotus</i>	13
<b>Chapitre 3: Matériels et méthodes</b>	
III.1.Matériel végétal	16
III.2.Produits chimiques	16
III.3.Les souches microbiennes utilisée	16
III.4.Préparation du matériel végétal	17
III.5.Extraction des composés phénolique	17
III.6.Analyses des extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	18
III.6.1. Analyse quantitative	18

## Sommaire

---

III.6.2. Analyse qualitative	19
a. Dosage des phénols totaux :	20
b. Dosage des flavonoïdes totaux	22
III.7. Tests des activités biologiques	24
III.7.1. Activité antimicrobienne Souches microbiennes testées	24
III.7.2. Tests d'activité antioxydante	26
a. Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	26
b. Test du radical cation ABTS·+	28
c. Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)	30
d. Test de Molybdate Phosphate (PM)	31
III.8. Analyse statistique des résultats	33
<b>Chapitre IV Résultats et discussion</b>	
IV.1. Calcule les rendements d' extraction des extraits à partir des fruits et des feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	34
IV.2. Analyse qualitative des extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	35
IV.3. Analyse quantitative des extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	36
IV.4. Activités biologiques	39
IV.4. 1. Activité antimicrobienne	39
IV.4. 2. Activité antioxydante	42
a. Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	43
b. Test du radical cation ABTS·+	45
c. Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)	45
d. Test de Molybdate Phosphate (PM)	47
<b>Conclusion générale</b>	49
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Résumé</b>	

# **Introduction générale**

## Introduction générale

---

Les plantes jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé humaine. L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique en particulier saharienne et subsaharienne spontanées, qui à des utilisations thérapeutiques très efficaces. Parmi les plantes les plus répandues, on cite le jujube de différentes espèces qui est largement exploité dans la médecine traditionnelle et ce pour sa richesse en composants bioactives tel que la vitamine C, polyphénols flavonoïdes, triterpénoïdes et polysaccharides (Rais *et al.* , 2019).

De nos jours, il y a un regain d'intérêt pour les plantes médicinales qui attirent de plus en plus l'attention en raison de leurs propriétés thérapeutiques et de leur activité pharmacologique (Elaloui *et al.*, 2017).

*Zizyphus lotus* est une espèce qui offre un important service écosystémique dans les zones caractérisées par un climat chaud et sec. Le jujubier s'étale sur tout le Nord du Maghreb et est très répandu dans les régions arides d'Algérie. La plante est très riche en molécules possédant des activités biologiques variées, ce qui explique ses usages multiples par les autochtones.

La plante de *Z. lotus* contient un taux sensiblement élevé de composés phénoliques totaux, qui permettent le piégeage des radicaux libres, certaines recherches ont même montré une activité plus élevée que les antioxydants synthétiques (Mekious *et al.*, 2020).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier les deux activités biologiques : antioxydante et antimicrobienne des deux extraits éthanoïques de différentes organes d'espèce de *Zizyphus lotus* (feuilles et fruits). Pour cela notre étude englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur une analyse qualitative et une autre analyse quantitative du contenu en composés phénoliques. Le second aspect est consacré à une évaluation de deux activités biologiques : activité antioxydante et antibactérienne afin de déterminer l'efficacité des molécules bioactives.

# **Chapitre I**

## **Généralité sur *Zizyphus lotus***

# Chapitre 1: Généralités sur le *Zizyphus lotus*

---

## I.1. Description botanique

Le *Zizyphus lotus* est une plante dicotylédone, issue de la famille Rhamnacée. Appelée localement « Sedra » (Borgi et al., 2007). C'est un arbuste très ramifié épineux à grandes souches souterraines de 1,3 m à 2,2 m (Figure 1).

- **Les Feuilles** sont alternes, petites de 1 à 2cm de longueur et de 7mm de largeur (Rsaissi et al., 2013), ovales, obtuses, légèrement dentées, à trois nervures, glabres, portées sur de courts pétioles.
- **Les Fleurs** petites, d'un blanc pâle, solitaires ou glomérées, a un ovaire supère bisexuel et fleurissent en juin (Baba Aissa, 1999). Situées aux aisselles des feuilles. Pédoncule court et uniflore. Calice à cinq divisions peu profondes, ouvertes et alternes avec les pétales, qui sont au nombre de cinq.
- **Les Fruit** sont des drupes sphériques dont les noyaux osseux biloculaires, petites et ronds sont recouverts d'une pulpe demi-charnue, très vite sèche, riche en sucre, comestibles et s'appellent « nabak ». La couleur du péricarpe du fruit de jujubier sauvage change du vert, au jaune, puis au rouge et enfin au marron, cette variation de couleurs représente les différents stades de maturité du fruit (Wang et Waller 2006).



a- Fruits



b-feuilles

**Figure 1** : Différents parties de *Zizyphus lotus*

## Chapitre 1: Généralités sur le *Zizyphus lotus*

---

### I.2. Classification botanique : (Quezel et Santa, 1962).

**Embranchement :** Spermatophytes.

**Sous embranchement :** Angiospermes.

**Sous classe :** Dicotylédone.

**Ordre :** Celastrales

**Famille :** Rhamnacées.

**Genre :** *Zizyphus*.

**Espèce :** *Zizyphus lotus* L.

### I.3. Répartition géographique

*Zizyphus lotus* L est abondamment présent dans la région méditerranéenne, dans toute la Libye jusqu'au Maroc, en Algérie et dans les pays du sud de l'Europe comme l'Espagne, la Grèce et Chypre. En Algérie et en Tunisie. (Quezel et Santa, 1962).

### I.4. Composition phytochimiques

Le *Zizyphus lotus* comme une plante médicinale synthétise de nombreux métabolites primaire et secondaires tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les saponosides . (Tableau 1)

**Tableau 1 :** Composition des différents organes du *Zizyphus lotus* (Borgi et Chouchane ., 2009).

Organe végétale	Composés majeurs
Fruits	Polyphénols, Flavonoïdes et Tanins
Feuilles	Glucides (monosaccharides) Saponines, Flavonoïdes, Polyphénols, Rutine
Ecorces des racines	Polyphénols, Saponines Pro anthocyanidine, Flavonoïdes
Pulpes	Sucre soluble, Minéraux, Protéines Tanins, Polyphénols, Flavonoïdes

### I.5. Utilisations en médecine traditionnelle

Le *Zizyphus lotus* utilisées en médecine traditionnelle à la fois en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, pour le traitement de plusieurs pathologies (l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée, l'insomnie, l'inflammation et les peptisateurs ) (Ghedira, 2013).

✓ Les feuilles des espèces de *Zizyphus* ont un effet hypoglycémiant et une activité antiseptique. L'infusion de fleurs est utilisée comme fébrifuge et désinfectant pour les yeux (Ourzeddine *et al.* 2017).

✓ Le fruit de *Z. lotus* est une source précieuse de nutriments ainsi que des composés antioxydants, antimicrobiens et antifongiques, immunosuppresseurs, antiinflammatoires et antiulcérogènes. Les fruits ont également des effets antitumoraux (Baba Aissa, 1999 ).

✓ tandis que l'extrait de racines a des activités anti-inflammatoire ; analgésique antifongiques et antibactériennes (Ourzeddine *et al.* 2017).

### I.6. Activités biologiques

La richesse de cette plante en composés phénoliques est à l'origine de plusieurs activités biologiques.

#### ➤ **Activité antioxydante**

*Zizyphus lotus* (L) est riche en composés antioxydants tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, ces composants préviennent le stress oxydatif (Mothana, 2011). Les recherches réalisées par Benammar et ses collègues (2014) confirment la richesse de la plante en polyphénols et en flavonoïdes, qui présentent des propriétés antioxydants *in vitro*. D'autres travaux mentionnent que l'acide oléique des fruits du jujubier est responsable des propriétés antioxydantes (Ochoa *et al.*, 2002).

D'autre part, une étude réalisée par Benammar *et al* (2014), dans l'objet de déterminer les effets antidiabétiques et antioxydants des extraits des feuilles de *Zizyphus lotus* chez des rats wistar diabétique révèle un effet hypoglycémiant qui est associée à une augmentation du statut antioxydant.

➤ **Activité antimicrobienne et antifongique**

Des études *in vitro* ont clarifié les effets des extraits du *Z. lotus* (L) sur la croissance de plusieurs espèces de bactéries et de champignons, ils ont démontré que les extraits des fruits, dans des solvants étheriques et méthanoliques, présentaient les effets les plus bactéricides (Rsaissi *et al.*, 2013 ; Ghazghazi *et al.*, 2014).

# **Chapitre II**

## **Les substances bioactives des composés phénoliques**

### II.1. Les principes actifs

Le principe actif est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base d'une drogue végétale et qui est utilisée dans la fabrication des médicaments. Les principes actifs ou le principe actif d'une plante médicinale sont des composants naturels présents dans celle-ci. Ils confèrent à la plante son activité thérapeutique. Bien que souvent en quantité extrêmement faible dans la plante, ces composants en sont l'élément essentiel. On retrouve les principes actifs dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et dans une même plante, tous les principes actifs n'ont pas les mêmes propriétés. Chez certaines plantes, une partie de la plante seulement peut être utilisée. Exemple: seule la racine du ginseng contient des substances tonifiantes. Le principe actif présente un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Il est issu de des plantes fraîches ou des séchées. Parmi les parties utilisées: les feuilles, fleurs, racines, écorces, sommités fleuries ou encore les graines (Benghanou, 2012). Par opposition aux métabolites primaires - essentiels dans le développement et la croissance de la plante-, les métabolites secondaires participent quant à elle à l'adaptation de la plante avec son environnement, ainsi qu'à la tolérance contre les chocs (variation de la température, rayons UV de la lumière, insectes nocifs, ...) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

### II.2. Les polyphénols

#### Définition

Les polyphénols constituent une famille importante de métabolites secondaires du règne végétal (Hennebelle et *al.*, 2004), ayant toutes un point commun : la présence dans leur structure d' au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbones (cycles benzéniques) portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles . Ils sont divisés en plusieurs catégories : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins (Hennebelle et *al.*, 2004).

### Classification

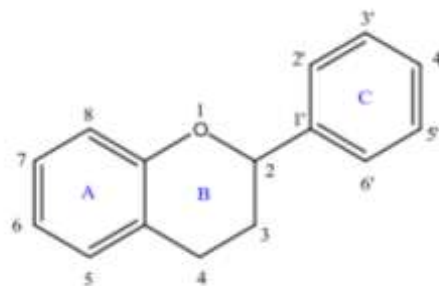
Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes, qui se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modification de ce squelette et les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres (glucides, lipides, protéines, etc.) (Macheix et *al.*, 2005).

### II.3 Les flavonoïdes

#### Définition

C' est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, avec plus de 9000 composés différents (Yao et *al.*, 2004) qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils sont considérés comme des pigments jaunes quasi universels des végétaux (Rice-Evans et Packer, 1998).

Ces molécules ont toutes le même squelette de base à quinze atomes de carbones (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux) que désignent les lettres A et C, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre B (figure 2) (Dacosta, 2003).



**Figure 2 :** Structure de base des flavonoïdes

### Classification

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes, qui sont déterminées par l'état d'oxydation de l'unité de liaison (C), et la position du noyau benzénique (B) (Bruneton, 1993). Tandis que les composés de la même classe sont déterminés par le point d'hydroxylation, ou d'autre substitution du noyau A ou C (OH, OCH<sub>3</sub> et/ou glycosyl) (Edenharder et Grünhage, 2003).

En divise en plusieurs catégories : Les flavones, les flavonols et les dihydroflavonols, les isoflavonoides, les biflavonoides, les flavanones, les flavanols, les flavanediols (leucocyanidines), les anthocyanidines, les chalcones et les dihydrochalcones, les auronnes (Dacosta, 2003).

### II.4. Les tanins

#### Définition

Ce sont des métabolites hydrosolubles de masse molaire entre 500-2000 D, toutes les plantes en contiennent à des degrés différents (Bruneton, 1999).

Ce sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd et *al.*, 2008).

Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les affections, les insectes et les animaux herbivores, en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes (Khanbaba et Ree, 2001).

#### Classification

On distingue deux grands groupes, les tanins hydrolysables et les tanins condensés, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (Haslam, 1989).

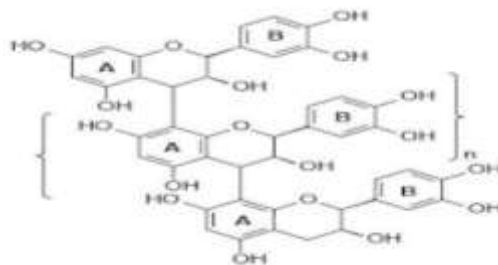
## Chapitre 2 : Les substances bioactives des composés phénoliques

---

- **Les tanins condensés (Tannins vrais ou tannoïdes)**

Ils sont également appelés proanthocyanidines, ce sont des polymères ou oligomères flavanique, constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de 50 unités (Khanbabae et Ree, 2001).

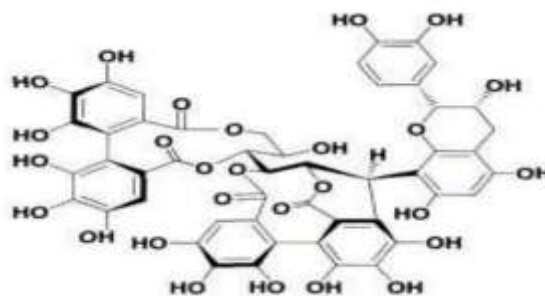
Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone C4-C8 ou C4-C6 dans le type B des proanthocyanidines, ou par une liaison interflavanique double (C4-C8 ou C4-C6) et (C2-O-C7) dans le type A (Figure 3) (Bruneton, 1999).



**Figure 3 :** Structure des tanins condensés

- **Les tanins hydrolysables**

Appelés aussi acide tannique, sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation d'acide ellagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible (de 500 à 3000) et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés (Figure 4) (Jarrige et *al.*, 1995).



**Figure 4 :** Structure des tanins hydrolysable

### II.5. Localisation des composés phénoliques dans *Zizyphus lotus*

Toutes les parties de plantes sont enrichis par les polyphénols, tel que : les flavonoïdes, les acides phénoliques et d'autres composés naturels.

#### a. Fruit

Les phénols totaux sont les composés principaux de 297 à 4078, 2 mg/100g de matière sèche, en outre, les flavonoïdes et les tanins sont présents en quantité modérés, respectivement 122 et 33 mg/100g (Tableau 2) (Hammi et *al.*, 2015).

**Tableau 2 :** Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans le fruit de *Zizyphus lotus*.

Organe végétale	Composés phénoliques	Contenu en mg/100g	Référence
Fruit	Acide phénoliques totales	297-4078.2	(Ghazghazi et <i>al.</i> , 2014 ; Hammi et <i>al.</i> , 2015).
	Flavonoïdes	122	
	Tanins	33	

#### b. Feuille

La teneur totale en phénols est de : 664 mg/100g (Ghazghazi et *al.*, 2014), avec des flavonoïdes allant de 130 à 199 mg/100g (Ghazghazi et *al.*, 2014). Une teneur élevée en saponines (340 mg/100g) (Borgi et *al.*, 2008) et une grande quantité de glucides (8720 mg/100g) ,et autres molécules trouvées en petite quantité inférieure à 10 mg/100g (Tableau 3).

## Chapitre 2 : Les substances bioactives des composés phénoliques

**Tableau 3 :** Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans la feuille de *Zizyphus lotus*

Organe végétale	Composés phénoliques	Contenu en mg/100g	Référence
Feuille	Totale phénolique	664	(Ghazghazi et al., 2014 ; Borgi et al., 2008)
	Flavonoïdes	130-199	
	Tanins	39	
	Saponines	340	
	Flavonol glycoside	3	

### II.6. Activités pharmacologiques des composés bioactifs de *Zizyphus lotus*

Comme les parties aériennes (feuilles, fruits) de *Z. lotus*, sont les plus enrichies par les polyphénols et les flavonoïdes (3630-8144 mg/100g) (Boulanouar et al., 2013), comparèrent aux graines qui sont très riches en graisses (Abeddaim et al., 2014), donc les différentes activités biologiques de la plante, sont dues aux différentes classes des composés bioactifs pharmacologiques telles que : les flavonoïdes, les alcaloïdes et plusieurs saponines.

Il a été démontré qu'ils possédaient des propriétés cardio protectrices (Benkhalti et al., 2002), anticancéreuses, antivirales, anti allergéniques (Borgi et Chouchane, 2009) et est largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, anti radicalaires et antimicrobiens (Cetkovic et al., 2008).

#### ➤ Activités antimicrobiennes

Des études faites par Ghédira, 1995 ont montré qu'un alcaloïde de cette espèce *Z. lotus* présente une activité antibactérienne significative, mais beaucoup de groupes de recherche ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que *Zizyphus lotus*, ils ont

trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus . Ces propriétés antimicrobiennes et antivirales de ces plantes, sont dues non seulement à la toxicité des flavonoïdes et tanins qui permettent l'inactivation des andésines microbiennes et des protéines de transport et l'enveloppe cellulaire, mais aussi à la capacité de se lier sur les enzymes responsables de la réplication du virus HIV et le virus d'influenza (Zeghad, 2009).

### ➤ **Activités anti oxydantes**

Les propriétés anti oxydantes des polyphénols participent à la prévention de diverses pathologies impliquant le stress oxydant, le vieillissement cellulaire, et les maladies cardiovasculaires ou dégénératives (Sarni et *al.*, 2006).

*In vitro*, les données sur les cellules " T " humaines suggèrent que les fruits de *Z. lotus* ont des activités anti oxydantes plus élevées par rapport aux autres parties de cette plante, suivies des feuilles, racines et tiges (Benammar et *al.*, 2010).

# **Chapitre III**

## **Matériels et méthodes**

## Chapitre 3: Matériels et méthodes

---

### III.1. Matériel végétal

Dans cette étude nous avons utilisée différents parties de *Zizyphus lotus* (feuilles et fruits), récoltés en Septembre 2022 de la wilaya de Laghouat.

### III.2. Produits chimiques

La liste des produits chimiques utilisés dans cette étude est regroupée dans le tableau suivant

**Tableau 4:** liste des produits chimiques utilisés

Nom du produits	Les marques
Ethanol	Biochem-chemopharma
Acide ascorbique, DPPH, ABTS, Carbonate de sodium, Chlorure d'aluminium, Réactif de Folin, Acide gallique, Hydroxyde de sodium, Quercétine, Hydroxyde d'ammonium .	Sigma-Aldrich
Méthanol	Honeywell/Riedel-de haen
Chlorure de fer , chlorure d'hydrogène	Prolabo

### III.3. Les souches microbiennes utilisées

Les souches utilisées sont des souches qui ont été préparées au laboratoire de microbiologie de l'université Amar Telidji à laghouat, puis à 4 C° dans une boîte de pétri contenant de la gélose inclinée.

## Chapitre 3: Matériels et méthodes

---

Les bactéries à Gram -

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

Les bactéries à Gram +

*Staphylococcus aureus*

### III.4.Préparation du matériel végétal

La partie aérienne de la plante (les feuilles et les fruits) sont séchées dans l'étuve. Après le séchage, le matériel végétal a été broyé par un mélangeur électrique et par mortier, pour obtenir une poudre fine. Cette poudre ainsi récupérée a été conservées dans un endroit sec, en vue de procéder aux différentes manipulations.

### III.5.Extraction des composés phénolique

Selon la méthode de Rezzoug et al., 2019 modifiée, 10g de la poudre végétale (feuilles et fruits du *Z. lotus*) a été mise à une extraction par macération avec 100 ml d'éthanol, pendant 48 H à température ambiante (environ 20°C), l'ensemble est filtré sur du papier filtre afin de séparer le marc du filtrat. L'extrait obtenu a été lyophilisé pour le réduire en poudre. Les résidus secs sont repris dans 10 d'éthanol pour les tests biologiques.

#### ❖ Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il est dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon :

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R\% = M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}} \times 100$$

Où :

**R** : est le rendement

**M<sub>ext</sub>** : est la masse (g) de l'extrait résidu sec.

**M<sub>éch</sub>** : la masse sèche(g) de l'échantillon végétal.

### III.6. Analyses des extraits du *Zizyphus lotus*

#### III.6.1. Analyse qualitative

##### Tests préliminaires

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des produits naturels et des métabolites secondaires, qui ont montré un grand potentiel dans le traitement des maladies humaines. L'objectif de cette étude est l'analyse phytochimique des extraits obtenus à partir des fruits et feuilles de notre plante *Zizyphus lotus* L.

Les tests phytochimiques qualitatifs consistent à la mise en évidence des différentes familles de composés dans la plante, elles sont basées sur les réactions de précipitation, de turbidité ou de coloration par des réactifs spécifiques (Dohou *et al.*, 2003 ; Diallo *et al.*, 2004, Rosine et Momo, 2009).

##### **Les flavonoïdes :**

Dans un tube à essai, introduire 1ml d'extrait à tester, 1ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes.

## Chapitre 3: Matériels et méthodes

---

### Les tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1ml de chaque extrait, 1ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. Une coloration bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques, et une coloration vert-noirâtre, la présence des tanins catéchiques

### Les quinones libres :

Introduire 1ml de l'extrait dans un tube à essai plus 100 $\mu\text{l}$  saturée de soude ( $\text{NaOH}$  10%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet révèle la présence des quinones libres.

### Les anthraquinones :

Dans un tube à essai, déposer 1ml de l'extrait, 1ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10% puis agité. Une coloration violette indique la présence d'anthraquinones libres.

### Les saponines :

Test de mousse : Dans un tube à essai, introduire 10ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence des saponines.

### Les terpénoïdes :

Test de Slakowski : Sur 1ml de l'extrait, ajouter 0,4ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique leur présence.

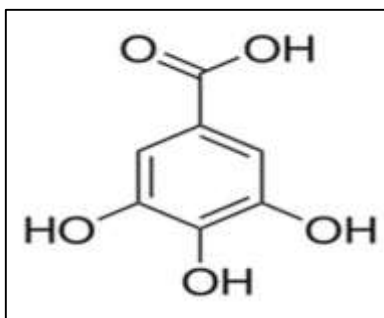
## III.6.2. Analyse quantitative

### a. Dosage des phénols totaux :

### ✓ Principe

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides: acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006) .

La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire, réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 5). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière sèche en poudre d'extrait (mg EAG/g extrait).



**Figure 5** : structure de l'acide gallique

### ✓ Protocole expérimentale :

La teneur phénolique totale a été déterminée avec le réactif Folin-Ciocalteu en utilisant la méthode décrite par Singleton et al., 1965.

## Chapitre 3: Matériels et méthodes

---

En bref, à 200 µl de chaque échantillon (trois répétitions), 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu à 10% (v / v) et 800 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%, p / v) ont été ajoutés et incubés à 25 ° C pendant 30 min. L'absorbance de chaque échantillon a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UV visible) . Une solution éthanolique d'acide gallique a été testée en parallèle pour obtenir une courbe d'étalonnage.

La teneur en composés phénoliques des échantillons analysés est calculée par la formule suivante:

$$\text{TCP} = \text{C} \cdot \text{V} / \text{m}$$

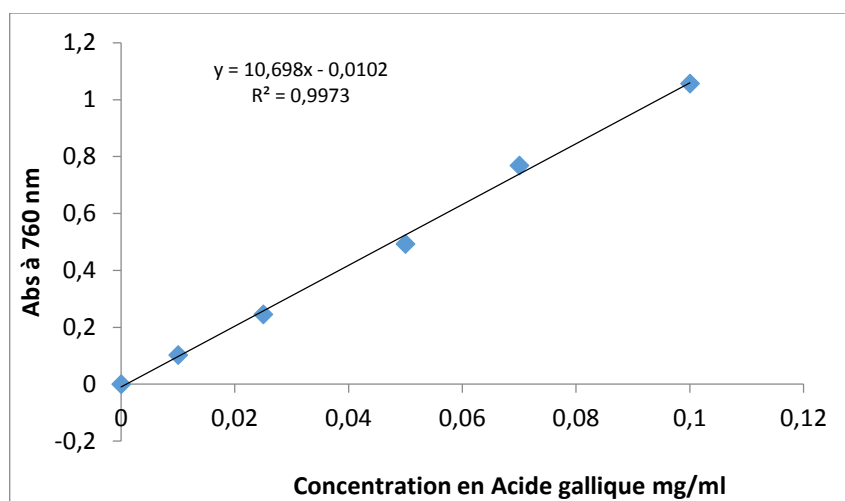
C: Concentration de l'extrait ;

V: Volume de solvant utilisé pour l'extraction ;

m: Masse en grammes de la prise d'essai.

### ✓ Courbe d'étalonnage

A partir d'une solution mère de l'acide gallique de 0,1 mg/ml, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 0,01 à 0,1 mg/ml. Ensuite, nous avons suivi le même protocole entrepris pour doser les échantillons. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la figure ci-dessous :

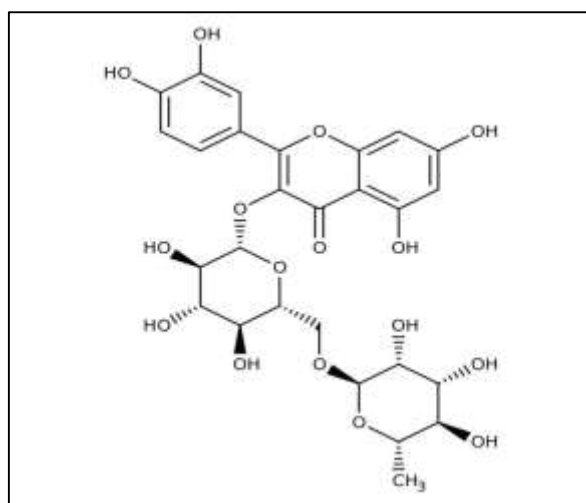


**Figure 6 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

### b. Dosage des flavonoïdes totaux

#### ✓ Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle ( $C=O$ ) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs,  $AlCl_3$  peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (Djeridane *et al.*, 2006).



**Figure 7 :** structure de la quercetine

### ✓ Protocole

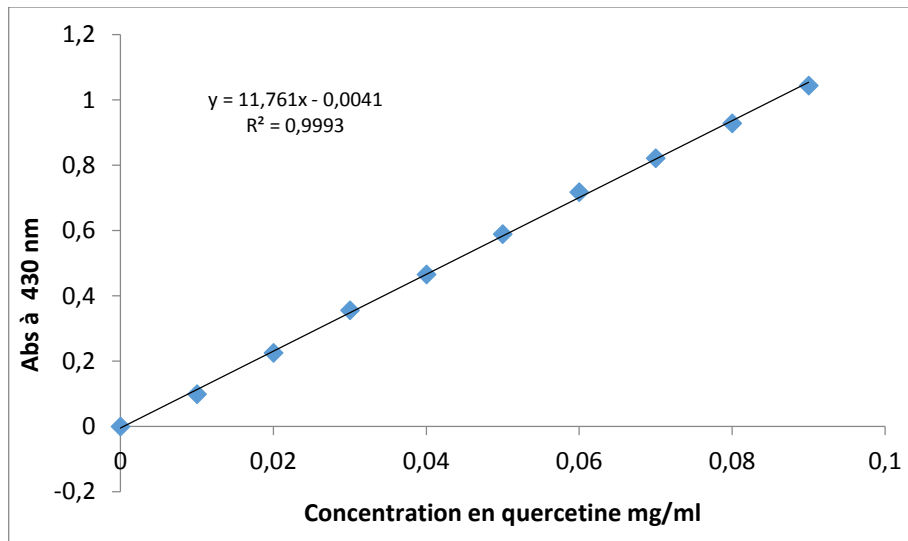
La teneur totale en flavonoïdes a été estimée en utilisant la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium de Boulanouar et al., 2013.

En bref, 1 ml d'extrait dilué a été mélangé avec 1 ml d'une solution de méthanol à 2% d' $\text{AlCl}_3$ . Après incubation à température ambiante pendant 15 min, l'absorbance a été mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UV visible). La teneur totale en flavonoïdes a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercetine et exprimée en milligrammes d'équivalents de quercetine par gramme de poids sec (mg QE / g de poids sec).

### ✓ Courbe d'étalonnage

A partir d'une solution mère de la quercetine de 0,1 mg/ml, une série de solutions filles est ainsi préparée, de concentrations allant de 0,01 à 0,1 mg/ml. Ensuite, nous avons suivi le même protocole entrepris pour doser les échantillons.

La courbe d'étalonnage de la quercetine est représentée dans la figure ci-dessous :



**Figure 8 :** Courbe d'étalonnage de la quercetine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

### III.7. Tests des activités biologiques

#### III.7.1. Activité antimicrobienne Souches microbiennes testées

Les souches microbiennes utilisées sont :

- *Staphylococcus aureus* : Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes de septicémies chez des sujets ayant subi une greffe ou avec une prothèse cardiaque (Delphine, 2008).
- *Escherichia coli* : Une bactérie caractérisée par une sporulation non facultative anaérobie, elle se trouve dans l'intestin et les selles des animaux et des reptiles à sangs chauds et le microbiote intestinal (Tenaillon, 2010). Néanmoins, certaines souches d'*E. coli* ont été répertoriées comme pathogènes pour l'Homme car responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques parfois mortelles (Dunière *et al.*, 2012).
- *Pseudomonas aeruginosa* : C'est l'agent le plus pathogène courant provoquant une infection chronique (Pressler, 2011).

**Tableau 5** : Quelques critères des souches bactériennes expérimentées

<b>Souche bactérienne</b>	<b>Gram</b>	<b>Durée d'incubation</b>	<b>Température d'incubation</b>	<b>Diamètre après 24 h à 37°C</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	18- 24 h	36°± 1°C	>1mm
<i>Escherichia coli</i>	-	18- 24 h	36°± 1°C	> 2 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	18- 24 h	36°± 1°C	> 2 mm

### Test antimicrobien

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits obtenus, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Le principe de cette méthode est d'utiliser des disques de papier Whatmann de 6mm de diamètre. Les disques ont été imprégnés dans différentes solutions (1g/ml) des extraits dissous dans le DMSO (diméthylsulfoxyde), Un disque imbibé par le DMSO a été employé en tant que contrôle négative. Puis déposés à la surface d'un milieu écouvillonné par une suspension microbienne. Nous avons utilisé pour les souches bactériennes le milieu Muller Hinton. A la fin de la durée d'incubation (18-24h), les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Choi et al., 2006). La présence de l'activité antimicrobienne, se manifeste par l'apparition d'une zone circulaire transparente autour du disque qui correspond à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible.

### III.7.2. Tests d'activité antioxydante

L'activité antioxydante des composés phénoliques provient de leur capacité à donner un électron ou un hydrogène, et de délocaliser un électron impair à l'intérieur de leur structure aromatique. Ils protègent ainsi les molécules biologiques contre l'oxydation.

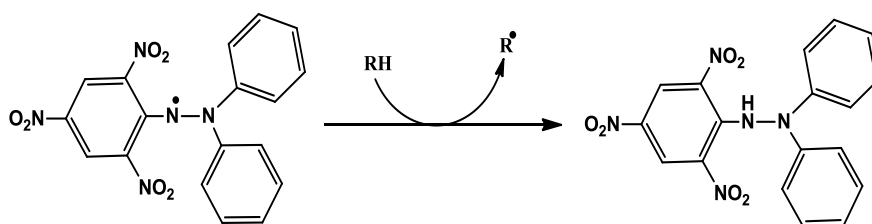
Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des différents extraits du *Zizyphus lotus* est réalisée par quatre méthodes :

- Test du radical libre DPPH
- Test du radical cation ABTS
- Test Pouvoir antioxydant réducteur du fer: FRAP
- Test Pouvoir antioxydant réducteur du phosphomolybdate .

#### a. Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

##### *Principe*

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Z. lotus*, nous avons éliè la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) comme un radical libre relativement stable selon le protocole décrit par Boulanouar et al., 2013. Ce test est basé sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH·). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène (figure 9).



**Figure 9:** Forme libre et réduite du DPPH

### Chapitre 3: Matériels et méthodes

---

La réduction de DPPH<sup>•</sup> (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) en DPPH-H (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine) induit une perte de sa couleur violette qui peut être suivie à 517 nm ce qui reflète la présence des substances anti-radicalaires dans le milieu; ainsi quand la perte de la couleur est rapide, le donneur de l'hydrogène est considéré comme un fort antioxydant (Rice -evans et *al.*, 2001).

#### *Protocole expérimental*

100 µl de chaque solution des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1 ml de la solution méthanolique du DPPH<sup>•</sup> (60 µM). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 100 µl de méthanol avec 1 ml de la solution méthanolique de DPPH<sup>•</sup>. Après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

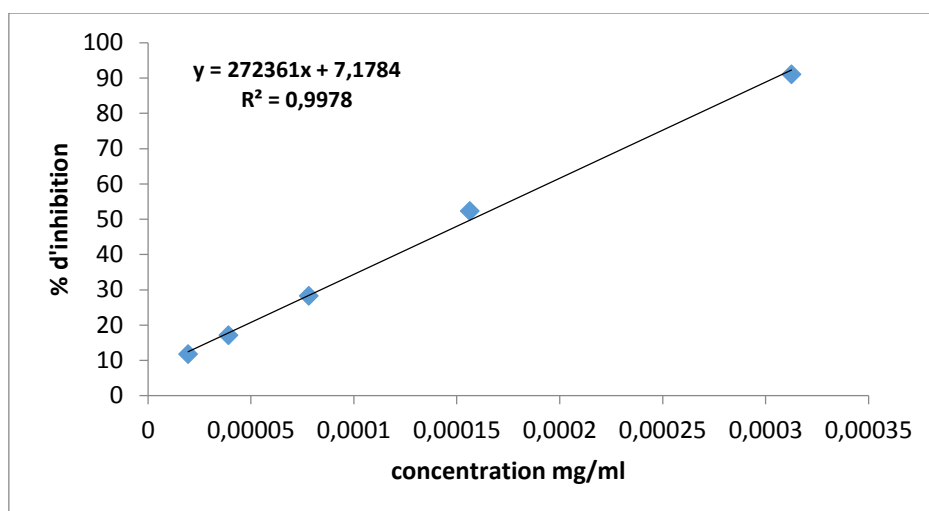
A titre comparatif le pouvoir anti-radicalaire des standards (acide ascorbique) a été mesuré suivant la même procédure citée précédemment. Les résultats de la mesure de la densité optique de chaque solution d'extrait à différentes dilutions ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition du DPPH par la formule suivante (Yu et *al.*, 2004) :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_{\text{Témoin}} - A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Témoin}}) * 100$$

Où :  $A_{\text{Témoin}}$  : désigne l'absorbance de DPPH<sup>•</sup> seul sans antioxydant.

$A_{\text{Echantillon}}$  : représente l'absorbance de DPPH<sup>•</sup> en présence de l'antioxydant.

Ensuite, le traçage du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant (composés phénoliques) ou antioxydant standard choisi a permis d'obtenir la concentration IC<sub>50</sub> qui définit comme la concentration nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH<sup>•</sup> (Kroyer, 2004).



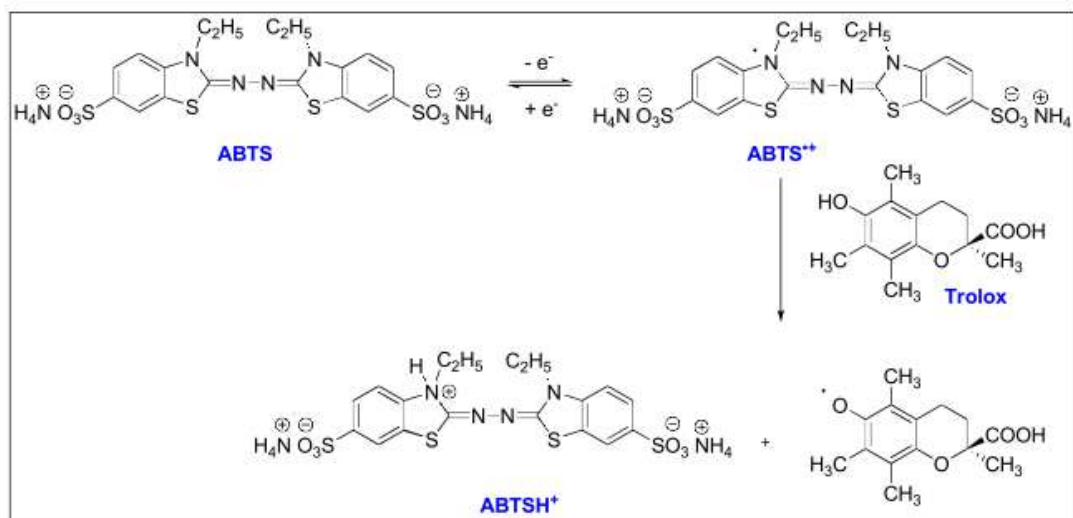
**Figure 10:** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique

### b. Test du radical cation ABTS<sup>•+</sup>

Le procédé utilisé était tel que décrit par Dorman et Hiltunen, 2004 , avec des modifications mineures. Basé sur la capacité d'un échantillon à inhiber le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> par rapport à un antioxydant de référence. Le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> est générée par une réaction chimique avec le persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ) .

Pour pouvoir générer le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> nous avons préparé une solution aqueuse de persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$  (2,45 mM) et à partir de cette solution on prépare la solution ABTS (7 mM) qui présente une coloration bleu-vert correspondant à la formation du radical cationique ABTS<sup>•+</sup>.

Ce mélange a été incubé à l'obscurité pendant 12 à 16 heures. La solution obtenue est diluée avec le méthanol pour obtenir une absorbance de 0,700.



**Figure 11 :** Formation et piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H<sup>•</sup>

### Protocol experimental :

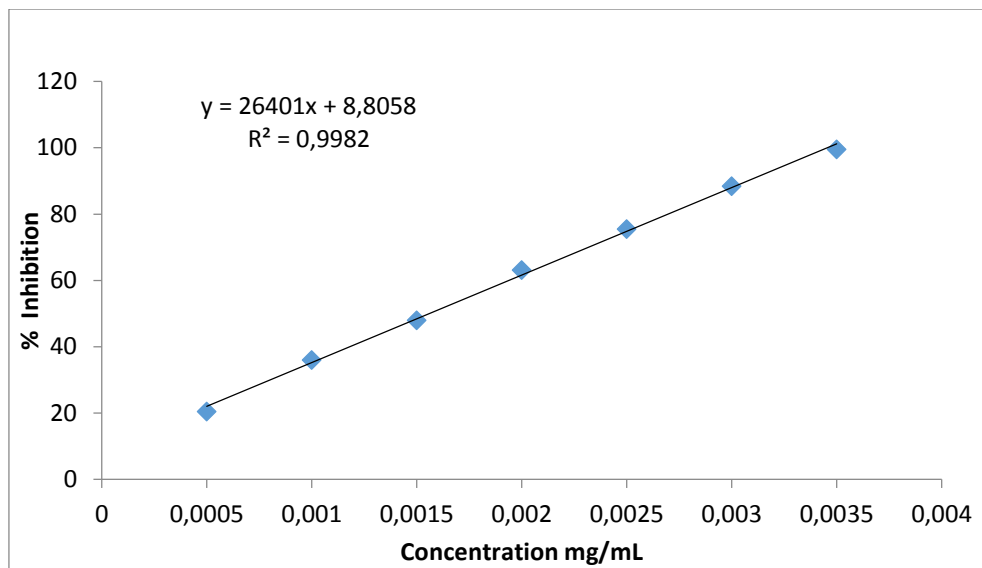
1400 µl de la solution ABTS préparé est ajouté à 100 µl de l'échantillon d'essai ou du standard acide ascorbique, après l'incubation du mélange pendant 6 min, L'absorbance a été lue à 734 nm a l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour chaque échantillon d'essai, le pourcentage d'inhibition de l'ABTS<sup>•+</sup> a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$(\% \text{ d'inhibition}) = [100 * (Ac - As / Ac)]$$

où Ac est l'absorbance de l'échantillon témoin (radicale ABTS) et As est l'absorbance de l'échantillon d'essai.

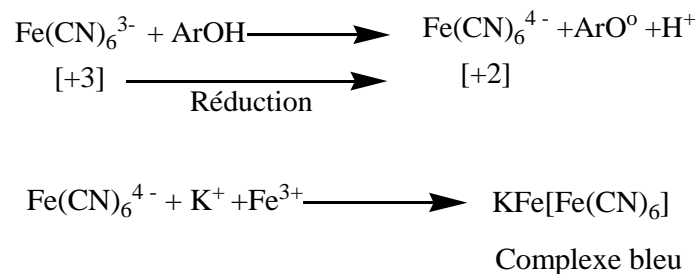
La concentration d'extrait qui pourrait piéger 50% des radicaux ABTS a été calculée. L'acide ascorbique a été utilisé comme composé de référence.



**Figure 12:** Pourcentage d'inhibition du ABTS par l'acide ascorbique

### c. Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)

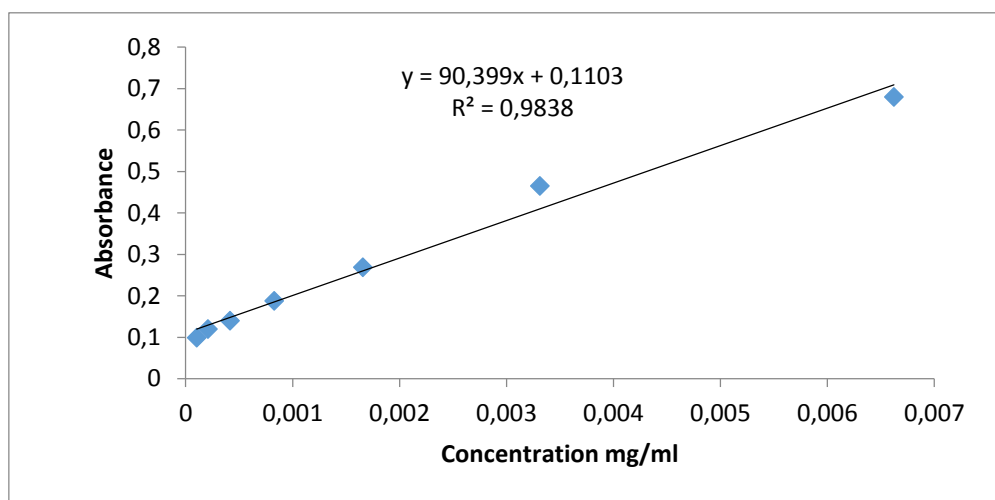
L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer. Le ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  fournit des ions Ferriques ( $Fe^{3+}$ ) qui seront réduits en Ferreux ( $Fe^{2+}$ ) par les antioxydants présents dans l'extrait végétal (Figure13). Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu, 1986.



**Figure 13:** Principe du test FRAP

### Protocole expérimental

Les différentes concentrations des extraits (25  $\mu$ l) sont mélangées avec 0.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 0.5 ml de hexacyanoferrate de potassium  $[K_3Fe(CN)_6]$  à 1%. L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes. Après, 0.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés. Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. On ajoute alors à 0.5 ml du surnageant obtenu, 0.5 ml d'eau distillée puis 0.1 ml de chlorure de fer  $FeCl_3, 6 H_2O$  (0.1%) fraîchement préparé. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis. Le control positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Les expériences sont répétées en 3 fois.



**Figure 14:** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (test FRAP)

### d .Test de Molybdate Phosphate (PM)

Le test du pouvoir réducteur du Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la

## Chapitre 3: Matériels et méthodes

---

réduction des molybdates en Molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par l'UV à une longueur d'onde de 695nm.

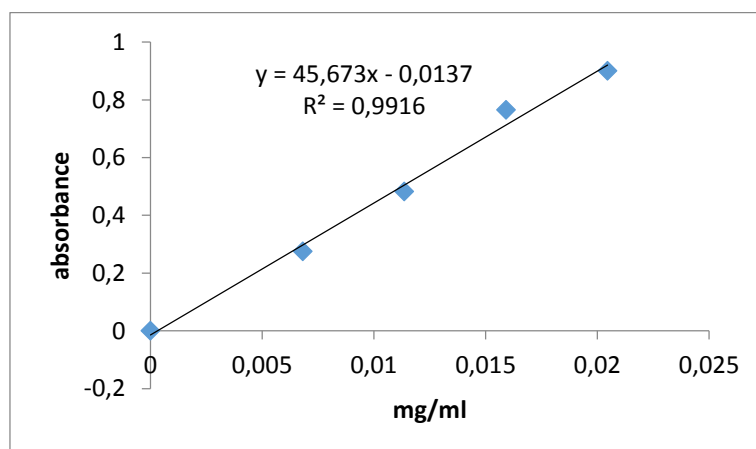
### Procédure expérimentale

On prépare 100ml d'un mélange des trois solutions suivantes :

- 0.6M d'acide sulfurique
- 28 mM de phosphate du sodium
- 4 mM de molybdate d'ammonium

Ce test consiste à mélanger 300 $\mu$ l de chaque dilution méthanoïque de l'extrait (ou acide ascorbique) avec 3 mL de la solution préparée précédemment. Le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95°C pendant 90min. après refroidissement jusqu'à température ambiante on mesure l'absorbance à une longueur d'onde égale à 695nm. (Rezzoug et al., 2019).

Les différents extraits ont été traités de la même façon pour tracer les courbes représentantes de la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution.



**Figure 15 :** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (test phosphomolybdate)

### III.8. Analyse statistique des résultats

Dans toutes les expériences du dosage et d'évaluation de l'activité antioxydante, les données expérimentales obtenues ont été exprimées en tant que la moyenne et l'écart-type. Le coefficient de corrélation ( $R^2$ ) de l'activité antioxydante a été déterminé en utilisant les programmes l'Excel 2010.

# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussion**

## Chapitre IV Résultats et discussion

---

### IV.1. Calcule les rendements d' extraction des extraits à partir des fruits et des feuilles du *Zizyphus lotus*

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est l'extraction par macération. Il s'agit d'une méthode traditionnelle largement utilisée. Il s'agit de mettre en contact le matériel végétal avec le solvant à température ambiante avec ou sans agitation.

La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait par rapport au poids de matière végétale sèche sont représentés dans le tableau 6 ci-dessous :

**Tableau 6 :** Aspects, couleurs et rendement des deux extraits du *Zizyphus lotus*

Partie utilisée	Aspect	Couleur	Rendement
<b>Fruit</b>	Pate	Marron claire	6.5 %
<b>Feuille</b>	Poudre	Marron foncée	12.7%

En général, la couleur des extraits est de marron foncée pour les feuilles et de marron claire pour les fruits. La différence de la couleur entre les extraits est due à la présence des pigments de différentes natures. Selon la littérature, ils peuvent être des chlorophylles, caroténoïdes et des anthocyanes (Gross et *al.*, 1983 et Barreveld, 1993).

Le rendement d'extraction a été déterminé par rapport au poids de matière végétale sèche rendu en poudre pour les différentes parties étudiées du *Zizyphus lotus* (les feuilles et les fruits). Les résultats de rendement d'extraction ont été exprimés en pourcentage (P) et ils sont représentés dans le tableau 5. Les résultats obtenus montrent que les rendements varient d'une partie à une autre. En effet l'extrait de la partie des feuilles représente un rendement élevé (12.7 %), alors

que les extraits de la partie fruits possèdent un rendement faible (6.5 %). Cela peut s'expliquer par le fait que les feuilles contenant des molécules bioactives à grande solubilité dans le solvant d'extraction choisi.

Plusieurs méthodes d'extractions ont été utilisées sur différentes parties de cette espèce. Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie (Mohammedi, 2006), car le rendement n'est que relatif et semble être lié à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de la récolte et de stockage ainsi qu'aux méthodes d'extraction appliquées. D'autres facteurs peuvent avoir une influence sur le rendement d'extraction, tel que le pH, la température, le ratio solide/liquide (Saoud, 2016).

### **IV.2. Analyse qualitative des extraits du *Zizyphus lotus***

#### ***Tests préliminaires***

Les résultats des tests de détection de quelques groupes chimiques responsables des effets thérapeutiques, effectués sur les poudres issues des espèces testées sont regroupés dans le tableau 7.

## Chapitre IV Résultats et discussion

---

**Tableau 7 :** Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires sur les différents extraits du *Zizyphus lotus*

Métabolite testé	Résultats	
	Fruit	Feuille
Flavonoïdes	+	++
Quinones libres	+	++
Anthraquinones	-	-
Tanins	-	++
Saponines	-	-

+ Présence, ++ présence plus importantes, - absence.

Il ressort des analyses effectuées la présence de flavonoïdes, quinones libres et des tanins dans les feuilles du *Zizyphus lotus* avec une quantité importante, et l'absence des groupements anthraquinones et saponines, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par Borgi et *al.*, 2007.

L'apparition de la couleur bleu verdâtre reflète la présence des tanins catéchiques (condensés) dans l'extrait des feuilles, alors son absence total dans les extraits de fruits. Les mêmes résultats sont trouvés par Borgi et *al.*, 2007, qui ont effectué le test préliminaire des tanins sur différents extraits obtenus à partir des différents organes du *Zizyphus lotus*, dont ses résultats ont révélé la présence des tanins dans les extraits polaires (aqueux et méthanolique), et leur absence dans l'extrait chloroformique .

### IV.3. Analyse quantitative des extraits du *Zizyphus lotus*

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des fruits et feuilles de *Zizyphus lotus*, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le

## Chapitre IV Résultats et discussion

---

choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes sont attribuées à ces composés (Zhang et al., 2016).

Des droites d'étalonnages ont été tracées pour cet objectif, qui est réalisées avec des solutions d'étalons à différentes concentrations. Les quantités des phénols totaux et des flavonoïdes ont été rapportées en milligramme d'équivalents de l'étalon utilisé par gramme d'extrait brut (mg EE/g extrait brut).

Le contenu en polyphénols totaux a été déterminé par la méthode du Folin ciocalteu (Boulanouar et al., 2013), où l'acide gallique a été utilisé comme standard (765nm). Pour les flavonoïdes, le dosage a été réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium (Boulanouar et al., 2013), en utilisant la quercitrine comme standard (430nm). Les résultats sont représentés dans le tableau 8.

**Tableau 8** : La teneur en composés phénoliques et flavonoïdes des deux extraits ( fruits et feuilles)

Extrait	Polyphénols (mg EAG /g extrait brut)	Flavonoïdes Totaux (mg EQ /g extrait brut)
Fruit	61.25 ± 4.75	31.47 ± 6.60
Feuille	279.07 ± 18.84	132.74 ± 27.74

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

L'examen des résultats obtenus montrant que les extraits de *Z. lotus* possèdent des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes très différentes et en relation étroite avec la partie étudiée. En effet, Il ressort que l'extrait des feuilles est l'extrait le plus riche en polyphénols (279.07 ± 18.84 mg EAG /g extrait) et flavonoïdes (132.74 ± 27.74 mg EQ /g extrait), Néanmoins, l'extrait des fruits représente la teneur le plus faible avec des valeurs de (61.25 ± 4.75 mg EAG / g d'extrait et de 31.47 ± 6.60mg EAG/g d'extrait) respectivement.

## Chapitre IV Résultats et discussion

---

D'autre part les teneurs rapportée par Boulanouar et al., 2013 sur le dosage des composés phénoliques dans d'autres parties de *Zizyphus lotus*, ont démontrés que les écorces des racines apparaissent plus riches en polyphénols.

Généralement, les résultats obtenus ont montré que les teneurs en phénols totaux sont très importantes que celles observées pour d'autres espèces. Ainsi, nous pouvons conclure que les feuilles et les tiges de *Zizyphus lotus* sont relativement riches en composés phénoliques.

Egalement, la richesse de la partie des feuilles en composés phénoliques peut être expliquée par le fait que ces composés interviennent dans la protection de cette partie vis-à-vis différents types de stress (lumineux, hydrique, thermique, salin. etc.) car cette partie est le siège de la photosynthèse (Telli, 2017).

Ces variations peuvent s'expliquer par le fait que la quantité des composés phénoliques des extraits de la plante étudiée dépend essentiellement : de son origine (Ebrahimzadeh *et al*, 2008), de la variété, de la saison de culture, de la saison de récolte, des conditions climatiques et environnementales, de la localisation géographique, des différentes maladies qui peuvent affecter la plante, de la maturité de la plante et de la durée de conservation.

En réalité, il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal non purifié (Macheix *et al.*, 2005). Néanmoins, une estimation de la teneur en phénols totaux peut être obtenue par différentes méthodes, la plus utilisée est celui de Folin-Ciocalteu qui, en milieu alcalin, se réduit en mélange d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène (Beddou, 2015)

Bien que la grande sensibilité de la méthode de Folin-Ciocalteu, elle peut présenter des problèmes d'interférence, de ce fait les résultats du dosage des composés phénoliques ne montrent pas à toute fois les valeurs exactes de contenu des extraits en phénols totaux. En effet,

le réactif Folin-Ciocalteu peut réagir avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane), les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose (Boizot et Charpentier, 2006).

D'autres techniques pour la quantification de ces composés tels que chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) peuvent être utilisées. Ces analyses permettront la séparation et la quantification de composés phénoliques ainsi que la connaissance des principales classes de composés phénoliques présentes dans chaque extrait ainsi que leurs quantités relatives. L'élucidation de la structure est souvent réalisée en utilisant la combinaison de GC et HPLC avec l'analyse par spectrométrie de masse, ainsi que d'autres techniques pertinentes.

### IV.4. Activités biologiques

#### IV.4.1. Activité antimicrobienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de nos deux extraits préparés à partir des fruits et des feuilles du *Zizyphus lotus* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton).

Cette activité est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant les échantillons vis-à-vis de un souche bactérienne Gram positive (*Staphylococcus aureus*) et deux Gram négatives (*Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa*) après 24 H d'incubation à une température adéquate de 37°C .

Les résultats qui se présentent ci-après montrent que les extraits ont des activités antimicrobiennes de degrés variables contre les souches des différents micro-organismes testés.

La lecture des zones d'inhibition se fait au dos des géloses sur un fond noir, puis la mesure les diamètres d'inhibition en millimètre se fait au moyen d'un pied à coulisse. Les résultats conquis se présentent dans les figures 16 et 17 et le tableau 8 qui suivant :



Staphylococcies aureus

Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

**Figure 16 :** Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de l'extrait fruit de *Z. lotus*



Staphylococcies aureus

Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

**Figure 17:** Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de l'extrait feuille de *Z. lotus*

**Tableau 9:** Diamètres d'inhibition obtenus des extraits testés sur trois bactéries.

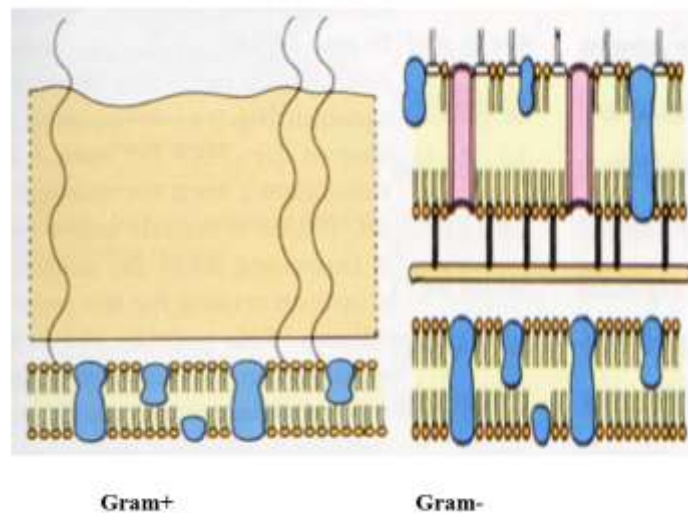
Extraits	Diamètre des zones d'inhibition (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Fruit</b>	10,53	9,50	9,8
<b>Feuille</b>	12,12	8,28	12

## Chapitre IV Résultats et discussion

---

D'après nos résultats, on observe que les grandes zones d'inhibition apparaissent avec l'extrait des feuilles sur *Staphylococcus aureus* (12,12 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (12 mm) avec une concentration de 5 mg/ml. Les deux extraits testés se révèlent actifs avec un degré différent, et cela est lié à la présence des substances actifs (polyphénols), ce qui est confirmé par (Aziz *et al.*, 1998) qui a démontré que l'activité antibactérienne du *Zizyphus lotus* semble être médiée par la teneur en composées phénoliques.

Il en ressort de cette analyse que chaque composé agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire, qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe (la sensibilité de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* avec l'extrait des feuilles) ou une action moindre, voire même nulle sur un autre (la résistance de *Escherichia coli* avec les deux extraits). Il est apparaît que le *Staphylococcus aureus* (gram positive) est la bactérie la plus susceptible par comparaison avec les autres souches (gram négative) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Ali-Shtayeh *et al.* , 1998) . (figure 18).



**Figure 18** : Structure de la paroi bactérienne (Ali-Shtayeh et al ., 1998)

### IV.4. 2. Activité antioxydante

De nombreuses études réalisées sur les produits naturels ont prouvé que ce sont particulièrement les composés phénoliques qui sont responsables de leur activité antioxydante (Djéridane et *al.*, 2008, Boulanouar et al., 2013). Pour cette raison, nous avons évalué le pouvoir antioxydant de nos extraits phénoliques.

Plusieurs méthodes sont utilisées afin de mesurer l'activité antioxydante d'un matériel biologique. Les plus couramment utilisées sont celles faisant intervenir des composés chromogène des radicaux naturels qui stimulent les espèces réductrices d'oxygène. Ces méthodes sont populaires en raison de leur facilité de rapidité et de sensibilité. La présence d'antioxydants conduit à la disparition de ces chromogènes radicalaires; les plus largement utilisés étant l'ABTS et la méthode DPPH. Quelques autres dosages couramment utilisés comme test FRAP et Phosphomolybdate .

### a. Test DPPH

Les mesures de l'absorbance de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•. L'activité antiradicalaire peuvent être formulée en tant que: pourcentage de l'activité anti-radicalaire ou en pourcentage du radical DPPH• restant ou peuvent également être exprimée en utilisant le paramètre IC<sub>50</sub>, qui l'on choisit à fin déterminer l'activité anti-radicalaire de nos extraits.

La valeur d'IC<sub>50</sub> est inversement proportionnelle à la capacité anti-radicalaire (taux d'inhibition I%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité anti radicalaire d'un composé est appréciable (Markowicz Bastos et *al.*, 2007).

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont déterminées graphiquement à partir la courbe linéaire entre les différentes concentrations des extraits phénoliques ou les antioxydants standards choisis (l'acide ascorbique) et la variation du pourcentage d'inhibition I % (voir chapitre 3). Les valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenues sont résumées dans le tableau 10.

Les résultats obtenus montrent une activité anti radicalaire considérables dans des deux extraits *Zizyphus lotus* avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de  $24.10 \pm 3.48 \mu\text{g/ml}$  et  $240 \pm 8.14 \mu\text{g/ml}$  pour l'extrait des feuilles et des fruits respectivement. En comparaison avec l'antioxydant standard (l'Acide ascorbique) qui démontre une  $\text{IC}_{50\%} = 3.62 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$ , les deux extraits de *Zizyphus lotus* s'avèrent moins actifs.

L'extrait des feuilles possède une activité antioxydante presque dix fois supérieure à celle de l'extrait des fruits .Cette divergence de l'activité est probablement attribuée à la présence d'une grande teneur en composés phénoliques responsables de l'activité antioxydante des feuilles de *Zizyphus lotus* ; ainsi que le solvant utilisé pour l'extraction (éthanol) possède une grande

## Chapitre IV Résultats et discussion

---

capacité d'extraire ces composés. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par (Boulanouar et al., 2013) qui montrent que l'extrait éthanoïque exerce une activité antioxydante plus élevée que l'extrait aqueux.

On remarque que nos extraits (feuilles et fruits) se sont révélés moins actifs vis - à - vis du DPPH<sup>•</sup> comparativement aux antioxydants de référence (acide ascorbique). Deux hypothèses pourraient être émises pour expliquer à leur moindre effet : soit que ces extraits ne contiennent pas assez de composés phénoliques; soit que les composés phénoliques présents ne correspondent pas à ceux possédant des propriétés antioxydantes intéressantes. D'après les résultats de la quantification des phénols totaux qui ont été montrés la richesse de ces extraits en ces composés, alors nous avons confirmé la deuxième hypothèse et que les extraits de *Z. lotus* ne possèdent pas des substances anti-radicalaires puissantes.

À titre comparatif avec des autres travaux, les résultats de l'activité anti-radicalaire de nos extraits sont en accord avec ceux obtenus par de Ghazghazia et al., 2014 qui travaillait sur les extraits aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus*. Il a montré une activité anti-radicalaire proche à nos résultats avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale de 30 µg/ml pour l'extrait aqueux des feuilles.

L'étude menée par Boulanouar et al., 2013 a montré que la capacité anti-radicalaire des extraits d'acétate d'éthyle et de butanol des racines de *Zizyphus lotus* ont été évaluées. Il a noté une faible activité antiradicalaire et une différence importante par rapport à nos résultats (IC<sub>50</sub> = 61 µg /ml et 21 µg /ml). Ce résultat peut être expliqué que les différentes parties (feuilles, tiges et racines) de *Zizyphus lotus* ne contiennent pas les mêmes types d'antioxydants.

En revanche, le radical DPPH<sup>•</sup> pose le problème de son instabilité à la lumière vu que son absorbance à 517 nm décroît sans l'intervention de quelconque antioxydant. C'est pourquoi les tests réalisés avec le DPPH<sup>•</sup> doivent impérativement se faire à l'obscurité. Ce même

inconvenient, peut expliquer la légère variation entre les valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenues à partir des différents extraits.

### **b. Test ABTS**

L'ABTS est un radical libre utilisé pour évaluer l'activité antioxydants des extraits. La réduction d'ABTS est basée sur la capacité d'oxydation de ce dernier en radical cationique ABTS<sup>+</sup> par des antioxydants tels que les composés phénoliques.

Les résultats des mesures de l'activité antiradicalaire (ABTS) des extraits des feuilles et fruits de *Ziziphus lotus* sont présentés dans le tableau 10. Ces résultats montrent que la valeur EC<sub>50</sub> la plus importante notée pour les feuilles ( $9.36 \pm 0.53 \mu\text{g/ml}$ ) suivie par les fruits de  $89.70 \pm 0.54 \mu\text{g/ml}$ . La différence d'activité antiradicalaire entre les organes de *Z. lotus* est expliquée par la différence de la teneur en composés phénolique y compris les flavonoïdes et tanins condensés.

Ces résultats sont en accord avec les résultats rapportés par (Lee *et al.*, 2015) qui ont indiqué que L'extrait de graine de jujube a montré une activité antioxydante significativement plus forte que l'extrait du la pulpe de jujube, déterminé par la mesure de l'activité de piégeage des radicaux à l'aide des méthodes DPPH et ABTS.

### **c. Mesure du pouvoir réducteur ferrique (test FRAP)**

Le pouvoir réducteur des deux extraits de *Zizyphus lotus* a été évalué en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, universel, rapide et reproductible. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe<sup>+3</sup> présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en (Fe<sup>+2</sup>), La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe<sup>+3</sup>) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe<sup>+2</sup>), l'intensité de cette coloration est mesurée à 700nm.

## Chapitre IV Résultats et discussion

---

En d'autres termes, le système  $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi-quantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction (Red/Oxy) (Amarowicz et *al.*, 2004).

Le changement de la couleur des solutions du jaune vers un bleu vert confirme que les deux extraits ont un pouvoir réducteur du fer, donc il ya une activité antioxydante. Le pouvoir réducteur des extraits de *Zizyphus lotus* est probablement dû à la présence des groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électrons (Siddhuraju et Becker ., 2007).

Le pouvoir antioxydant de nos extraits est comparé à ceux des antioxydants de référence comme l'acide ascorbique qui nous avons choisi dans cette étude. Les résultats des différents extraits et les antioxydants standards ont été présentés dans le tableau 10.

L'extrait des fruits se révèle moins actif que l'extrait des feuilles dont l' $\text{EC}_{50}$  est de l'ordre ( $120.34 \pm 1.17 \mu\text{g/ml}$  et  $23.58 \pm 1.10 \mu\text{g/ml}$ ) respectivement. Ce qui confirme les résultats obtenus avec le radical DPPH.

En général, le potentiel réducteur des extraits végétaux est dû à la présence des molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelles les polyphénols, ce qui explique le potentiel réducteur des deux extraits des fruits et feuilles de *Zizyphus lotus* qui sont riches en polyphénols.

L'activité antioxydante des deux standards à des faibles concentrations est toujours plus supérieure à celle de deux extraits étudiées qui agissent à des concentrations plus importantes.

### d. Test de Molybdates phosphate (PM)

La capacité antioxydante totale a été mesurée par un spectrophotomètre en utilisant la méthode de phosphomolybdate (PM) qui est basée sur la réduction de Mo(VI) en Mo(V) en présence des antioxydants et la formation d'un complexe phosphate/ Mo(V) d'une couleur verte (Ghedadba et *al.*, 2015).

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits est présentée dans le tableau 10.

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que l'acide ascorbique a présenté une activité antioxydante totale importante comparativement aux extraits étudiés.

En effet, l'activité la plus importante est celle de l'extrait des feuilles avec une valeur de  $EC_{50}$  est  $47.06 \pm 2.40 \mu\text{g}/\text{mL}$  par contre on trouve pour les extraits des fruits que l'activité réductrice est le moins active ( $276.35 \pm 67.8$ ). Ces résultats peuvent être expliqués par l'existence de molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort dans les extraits des feuilles.

**Tableau 10** :  $EC_{50}$  des tests DPPH, ABTS, FRAP et PM des deux extraits de *Z. lotus*.

<b>Extrait</b>	$EC_{50}$ (DPPH) $EC_{50} \mu\text{g}/\text{mL}$	$EC_{50}$ (ABTS) $EC_{50} \mu\text{g}/\text{mL}$	$EC_{50}$ (FRAP) ( $A_{0.5}$ , $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$EC_{50}$ (Molybdate) ( $A_{0.5}$ , $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
<b>Fruit</b>	$240 \pm 8.14$	$89.70 \pm 0.54$	$120.34 \pm 1.17$	$276.35 \pm 67.8$
<b>Feuille</b>	$24.10 \pm 3.48$	$9.36 \pm 0.53$	$23.58 \pm 1.10$	$47.06 \pm 2.40$
<b>Vitamine C</b>	$3.62 \pm 0.20$	$6.38 \pm 0.28$	$3.18 \pm 0.15$	$13.52 \pm 1.80$

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

---

Le but de la présente étude est la détermination des tests phytochimiques et des teneurs en antioxydants (polyphénols totaux et flavonoïdes) et mesure de l'activité antioxydante et le test antimicrobien des extraits des différentes parties de *Zizyphus lotus* en utilisant la méthode d'extraction par macération.

L'extraction par macération semble la meilleure méthode d'extraction, utilisée depuis longtemps pour extraire les substances bioactives à partir des fruits et des feuilles. Elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse.

Les analyses qualitatives effectuées ont mis en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins dans les deux extraits utilisés.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin ciocalteu révèle que nos deux extraits contiennent principalement des polyphénols à des concentrations dominantes. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$  se qui nous mène à remarquer leur présence dans les deux extraits en proportions différentes.

Les techniques utilisées pour étudier l'activité antioxydante des deux extraits éthanoïque sont les méthodes de FRAP et de Molybdate qui ont révèlent que les deux extraits ont une activité antioxydante différentes, sachant que l'extrait des feuilles est le plus actif. Ces mêmes résultats sont obtenus par la révélation chimique par les activités antiradicalaire DPPH et ABTS.

Le test de l'activité antimicrobienne des extraits, par la méthode de diffusion en milieu gélosé, a montré que les deux extraits testés sont actifs vis-à-vis de certaines souches bactériennes. Cependant, il est à noter que les bactéries les plus sensibles aux composés actifs étaient du genre *Staphylococcus aureus*.

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que les extraits des feuilles de *Zizyphus lotus* représentent une source naturelle prometteuse des molécules antioxydantes qui peuvent avoir des applications thérapeutique et préventive. Cependant, ces résultats restent préliminaires ;

et comme perspectives on propose :

- D'identifier et identifier ces molécules par des méthodes plus performantes LC-MS.
- De confirmer l'activité antioxydante par des études *in vivo*.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- Abeddaim M, Lombarkia O, Bacha A. (2014), Biochemical characterization and nutritional properties of *Zizyphus lotus* (L.) fruits in Aures regionn ortheastern of Algeria. *Food Science and Technology*,(15), 75-81.
- Ali-Shtayeh M. S, Yaghmour R. M. R, Faidi Y. R, Salem K, et Al-Nuri M. A. (1998) Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area, *Journal of Ethno Pharmacology*,( 60 ), 265-271.
- Amarowicz R, Pegg R. B, Rahimi-Moghaddam P, Barl B. & Weil J. A. (2004) ,Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies, *Food Chemistry* ,(84), 551- 562.
- Aziz N. H, Farag S. E, Mousa L. A. A et Abo-Zaid M. A. (1998), Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds, *Microbios*, 93 (374) , 43-54.
- Baba Aissa F. (1999), Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d' Algérie et du Maghreb Substance végétale. Edition Librairie Moderne. Rouiba, P 145.
- Beddou F, Bekhechi C, Ksouri R, Sari D.C &Bekkara F.A. (2015), Potential assessment of *Rumex vesicarius* L. as a source of natural antioxidants and bioactive compounds, *Journal of food science and technology*, 52(6), 3549-3560.
- Benammar C.E. (2011), effets antioxydants et immuno-modulateurs d'une plante médicinale nord-africaine, *zizyphus lotus* l. (sedra) :étude des différents extraits, Thèse De Doctorat. Université ABOU BEKR BELKAID-Tlemcen, pp 120.
- Benammar C, Baghdad C, Belarbi M, Subramaniam S, Hichami A. &Khan N.A. (2014) Antidiabetic and antioxidant activities of *Zizyphus lotus* L aqueous extracts in Wistar rats.S8-004. *Journal of Nutrition & Food Sciences*.
- Boizot N, Charpentier J.P, (2006), Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA. P 79-82.
- Borgi W, &Chouchane N, (2009), Anti-spasmodic effects of *Zizyphus lotus* (L) Desf. Extracts on isolated rat duodenum, *Journal of Ethno pharmacology*126 (3), 571-573.
- Borgi W, Ghedira K, Chouchane N, (2007), Anti-inflammatory and analgesicactivities of *Zizyphus lotus* rootbarks. *Fitoterapia*, (78), P 16-19.
- Borgi W, Recio M.C, Rios J.L, Chouchane N,(2008), Anti-inflammatory and analgesi cactivities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.), *South African Journal of Botany*, (14), P 320-324.
- Borgi W, Bouraoui A, Chouchane N,(2007(b)), Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, *Journal of Ethnopharmacology*,(12), 228-231.
- Boulanouar B, Abdelaziz G, Aazza S, Gago C, et Miguel M.G, (2013), Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *IndustrialCrops and Products*, (46), P 85-96.
- Cetkovic G, Canadanovic-Brunet J, Djilas S, Savatovic S, Mandic A, Tumbas V, (2008) Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of applepomace. *Food Chemistry*, (109), P 340-34.

## Références bibliographiques

---

- Choi Y-M, Noh D-O, Cho S-Y, Suh H-J, Kim K-M, Kim J-M, (2006), Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*,(39), 756-761.
- Delphine L, (2008), Etude pharmacochimique et chimiotaxonomique d'éponges du genre *Dysidea*. Mémoire master. Ecole de Chimie Physique et Electronique de Lyon, p 68.
- Diallo D, Sanogo R, Yasambou H, *et al*, (2004), Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *CR Chimie*, (7), 1073–80.
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem*, 97 : 654–660.
- Dohou N, Yani K, Thahrouch S, Idrissi Hassani L.M, Badoc A, Gmira N, (2003), Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine *Thynelaealy throides* .Bull. Soc. *Pharm. Bordeaux*,(142), 61-78.
- Dorman HJD, Hiltunen R, (2004), Fe (II) reductive and free radical scavenging properties of summersavory (*Sature jahortensis* L.) extract and subfractions. *Food Chem*, (88), 193-199.
- Edenharder R, et Grünhage D, (2003), Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by terttylhydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, (540), P 1-18.
- Elaloui M, Ennajah A, Ghazghazi H, Youssef I.B, Othman N.B, Hajlaoui M.R, ...et , A, (2017), of total phenols, flavonoides and tannins from *Zizyphus jujuba* (mill.) and *Zizyphus lotus* (L.)(Desf). Leaf extracts and their effects on antioxidant and antibacterial activities. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(1), 18-26.
- Ghazghazi H, Aouadhi C, Riahi L, Maaroufi A, et Hasnaoui B,(2014), Fatty acids composition of Tunisian *Ziziphus lotus* (L.) Desf. fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural Product Research*, 28 (No 14), P 1106- 1110.
- Ghedadba N, Hambaba L, Ayachi A, Aberkane M.C, Bousselsela H, Oueld Mokhtar S. M, (2015), Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium de sertide* Noé. *Phytothérapie*, (13), 118-129.
- Ghedira K, (2013), *Ziziphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae): jujubier sauvage. *Phytothérapie* (11), 149-153.
- Hammi H, Mkadmini K.H, Jdey, Abdelly CH, Majdoub H, Ksouri R, (2015), Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology. *Food Chemistry*, (184), P 80-89.
- Haslam E, (1989), Plant polyphenols. vegetale tannins revisited Cambridge. University Press , Cambridge, P 230.
- Hennebelle T, Sahpaz S, et Bailleul F, (2004), Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, (1), P 3-6.

## Références bibliographiques

---

Khanbaba K. et Ree T.R, (2001), Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, (18), P 641-649.

Kroyer G.T, (2004), Redcloverextract as antioxidant active and function al food in gredient. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(1), 101-105.

Lee H.G, Han H.J, Lee J-S, Park S-A, Ahn J-B, (2015), Extraction optimization and nano en capsulation of jujube pulp and seed for enhancing antioxidant activity. *Colloids and surface B: Biointerfaces*,(130), 93-100.

Macheix j j, FleurietA, jay-Allemand C, (2005), les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques).Edition techniques et documentation Lavoisier.

Markowicz-Bastos D.H, Saldanha L, Catharino R, Sawaya A.C.H.F, Cunha I, Carvalho P, Eberlin M,(2007), Phenolic Antioxidants I dentified by ESI-MS from Yerba Maté( *Ilexparaguariensis* ) and Green Tea ( *Cameliasinensis*) Extracts. *Molecules*, (12), p 423-432.

Mekious S, Masseaux C, Daoud N, Belhadj S, (2020), Caractéristiques millso palynologiques et contenu phénoliques du miel de *Ziziphus Lotus* d'Algéria.

Mohammedi Z, (2006), Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université ABOU BAKRBELKAÏD Tlemcen, 155p.

Mothana R.A.A, (2011), Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of the endemic Soqotraen *Boswelliaelongata* Balf. F. and *Jatrophaunicostata* Balf.F.in different experimental models.*Food and ChemicalToxicology* 49 (10), 2594-2599.

Ochoa J.J, Quiles J.L, Ramírez-Tortosa M.C, Mataix J.& Huertas J.R, (2002),Dietaryoils high in oleicacid but with different un saponifiable fraction contents have different effects in of *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*,(56), 264-270.

Ourzeddine W, Fadel H, Mechehoud Y, Chalchat J, Figueredo Gi, Chalard P, Benayache F, Benayache S, ( 2017), Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Fruit Essential Oil of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae) . *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* ,9(2), 228-232.

Oyaizu M, (1986), Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn. J. Nutr*,(44) ,307-315.

Pressler T, Bohmova B, Conwayc S, Dumciusd S, Hjelte L, Høibya N, Kollbergf H, Tümmlerg B, et Vavrovab V,(2011), Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition, Euro Care CF Working Group report, 10 (2), 75-78.

Quezel P, Santa S, (1962),Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre national de la recherche, Paris ,565p.

Rais C, Driouch A, Slimani C, Bessi A, Balouiri M, El Ghadraoui L, ... et Al Figuigui J, (2019), Antimicrobial and antioxidant activity of pulp extracts from three populations of *Zizyphus lotus* L. *Nutrition et Food Science*.

Rezzoug M, Bakchiche B, Gherib A, Roberta A, Guido F, Kiliñarslan Ö, Mammadov R Bardaweel S.K, Chemical Composition and Bioactivity of Essential Oils and Ethanolic

## Références bibliographiques

---

- Extracts of *Ocimum Basilicum* L. and *Thymus Algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complement. Altern. Med.*, (2019), 19, 146.
- Rice-Evans C, (2001), Flavonoid antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*, (8), 797-807.
- Rosine C, Momo D, (2009), Évaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*Acalyphammahirtum* (melastomatacees). Université de Dschang – Master en biochimie clinique et pharmacologie.
- Rsaissi N, EL Kamili, Bencharki B, Hillali L et Bouhache M, (2013), Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube *Ziziphus Lotus* (L.) Desf. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, (4), P 1521-1528.
- Sarni-Manchado P, Cheynier V, (2006), Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier. 2-10.
- Sarni-Manchado P, Cheynier V, (2006), Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France), 398.
- Siddhuraju P, & Becker K, (2007), The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Seed extracts. *Food Chemistry* 101(1), 10-19.
- Singleton V.L, Rossi J.A, (1965), Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*, (16), 144-153.
- Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, et Denamur E, (2010), The population genetics of commensal *Escherichia coli*, 8.
- Wang L, Waller C.L, (2006), Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, (17), P 300-312.
- Yao L. H, Jiang Y. M, SHI J, Tomas-Barberan F. A, Datta N, Singanusong R et Chen S. S, (2004), Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant Food Human Nutrition*, (59), P 113-122.
- Yu J, Ahmedna M and Goktepe I, (2004), Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*, P199–206.
- 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. Algérie : Université MENTOURI, Constantine, P 96.
- Zhang L, Fu Q, & Zhang Y, (2016), Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity. *Food Chemistry* 127(4), 1444-1449.

## الملخص

يتكون هذا العمل من تحديد التركيب الكيميائي النباتي ، والنشاط المضاد للأكسدة وكذلك النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات أوراق وثمار نبات السدر ويتعلق الجزء الأول من هذه الدراسة باستخراج وتقدير إجمالي المركبات الفينولية. وفلافونيدات بواسطة كاشف Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. تظهر المقارنة بين المستخلصين أن مستخلص الأوراق يظهر محتوى كبيراً في المركبات الفينولية والفلافونويد.

الجزء الثاني هو دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة لمستخلصات هذا النبات باستخدام أربعة اختبارات: محاصرة الجذور الحرة DPPH و ABTS واختبار الموليبيدات و (FRAP). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلصات الأوراق والفواكه لها نشاط مضاد للأكسدة ملحوظ مقارنة بتلك الموجودة في مضادات الأكسدة القياسية حمض الأسكوربيك. أظهر تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات المختلفة نشاطاً قوياً لمستخلص الأوراق ضد *Staphylococcus aureus* ، والتي لها أكبر منطقة تثبيط مقارنة بالسلاسل البكتيرية الأخرى المختبرة. من ناحية أخرى وجد أن مستخلص الفاكهة أقل نشاطاً.

من خلال دراستنا، يمكننا استنتاج أن النبتة الطبية المدروسة تمثل مصدراً هاماً للمركبات البيولوجية النشطة و الطبيعية.

**الكلمات المفتاحية:** السدر، الفحص الفيتوكيميائي ، الفينولات الكلية ، الفلافونويدات ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات.

## Résumé

Ce travail consiste à déterminer la composition phytochimique, l'activité antioxydante ainsi que l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles et fruits de la plante *Zizyphus lotus* L. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes par le réactif du Folin-Ciocalteu et par le trichlorure d'aluminium respectivement. La comparaison des deux extraits montre que l'extrait des feuilles exhibe une richesse importante en composés phénoliques et en flavonoïdes.

La deuxième partie est l'étude des activités antioxydantes des extraits de cette plante en utilisant quatre tests *in vitro* : le piégeage des radicaux libre DPPH et ABTS et le pouvoir réducteur test de PM et FRAP. Les résultats obtenus montrent que les extraits des feuilles et des fruits ont une activité antioxydante remarquable par rapport à ceux de antioxydant standard (l'acide ascorbique). L'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits a révélé une puissante activité de l'extrait des feuilles contre *Staphylococcus aureus*, dont la zone d'inhibition la plus grande, par comparaison avec les autres souches bactériennes testées. Par contre l'extrait des fruits est révélé moins actif.

En concluant que la plante médicinale étudiée représente une source importante de substances et de composés naturels bioactifs.

**Mots clés :** *Zizyphus Lotus*, screening phytochimique, phénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

## Abstract

This work consists in determining the phytochemical composition, the antioxidant activity as well as the antimicrobial activity of the extracts of the leaves and fruits of the plant *Zizyphus lotus* L. The first part of this study concerns the extraction and the quantification of the total phenolic compounds and flavonoids by the Folin-Ciocalteu reagent and by aluminium trichloride respectively. The comparison of the two extracts shows that the leaf extract exhibits a significant richness in phenolic compounds and flavonoids.

The second part is the study of the antioxidant activities of the extracts of this plant using four *in vitro* tests: DPPH and ABTS free radical scavenging and the test molybdate and (FRAP). The results obtained show that the leaf and fruit extracts have a remarkable antioxidant activity compared to those of the standard antioxidants (ascorbic acid). The evaluation of the antimicrobial activity of the different extracts revealed a potent activity of the leaf extract against *Staphylococcus aureus*, with the largest zone of inhibition compared to the other bacterial strains tested. In contrast, the fruit extract was found to be less active.

By conclusion that the medicinal plant studied represents an important source of bioactive substances and natural compounds.

**Keywords:** *Zizyphus Lotus*, screening phytochemical, total phenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.