

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
Département des Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : chimie organique appliquée

Présenté Par : KADARI MERIEM

DHOBB MAROUA

THEME

**Etude comparative des extraits lipidiques, phénoliques et
l'activité antioxydante de *Zizyphus Lotus.L* de trois régions
d'Algérie**

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

M^{me} . Bouziane Amel

M..C.B

Présidente

M^{me} Benguechoua Madjda

M.C.B

Examinatrice

M^{me} . HADBAOUI Zineb

M.C.B

promotrice

Année Universitaire : 2020- 2021

Remerciement

ELHAMDOULELLAH, le Miséricordieux de m'avoir donné Foi, volonté, et courage pour atteindre mon objectif.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadrante Madame *HADBAOUI Zineb* pour son encouragement continu et aussi d'être toujours là pour m'aider et me guider à trouver le bon chemin par sa sagesse et ses précieux conseils pour accomplir ce projet.

Mes vifs remerciements vont à l'adresse de tous les membres du jury Madame *Amel Bouziane* comme présidente et Madame *Benguechoua Madjda* comme examinatrice pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que Je dédie mon à mes chers parents qui m'ont soutenu tout au long de ma vie ainsi à mes sœurs en particulier ma sœur Sarah pour son aide et encouragement et mon frère Mossab

A tous les membres de ma famille.

*A mes amies et mes camarades surtout Sarah Zougari , Safia Graine et Rbaiha Bouabouche
Enfin à tous ceux qui m'ont soutenu et qui me soutient encore.*

Kadari Meriem

Dédicace

Je dédie cet humble travail avec grand amour,

Sincérité & fierté :

*A mes chers parents ma mère et mon père, source
de tendresse, de noblesse & d'affectation.*

*A mon grand-mère Fatna et à la mémoire de mon
grand père*

*A mes très chers frères et sœurs, en témoignage de
la fraternité, avec mes souhaits de bonheur de
santé et de succès.*

A ma tante Bakhta

A tous les membres de ma famille.

A mes amies surtout Kadari Meriem

*Enfin à tous ceux qui m'ont soutenu et qui me
soutient encore.*

Dhobb Maroua

Liste Des Abréviations

A_{ech}	Absorbance de l'échantillon
A_t	Absorbance de témoin
DPPH	1,1-Diphényl-2-Picryl –Hydrazyl
EAG	Equivalente en acide gallique
EQ	Equivalente en quercetine
g/l	Gramme/litre
EC ₅₀	Efficient Concentration
PI	Pouvoir Inhibiteur
PR	Pouvoir Reducteur
PH	Potentiel hydrogène
PPM	Phosphate molybdate
v/v	volume/volume
m/v	Masse/volume
UV-Vis	Ultraviolet-Visible
ERO	Espèce Réactives de l'Oxygène
VCEAC	vitamine C Equivalent Antioxydant Capacity
FRAP	Pouvoir Antioxydant Réducteur du Fer
ORAC	Capacité d'Absorption des Radicaux Oxygénés

Liste Des Figures

Figure.1	: Morphologie générale de <i>Zizyphus Lotus</i>	7
Figure.2	: Localisation géographique des stations d'échantillonnage	8
Figure.3	: Préparation des poudres de pulpes et noyaux de <i>Zizyphus Lotus</i>	9
Figure.4	: Réduction de radical libre DPPH	14
Figure.5	: Courbe cinétique de la variation de l'absorbance en fonction du temps dans le test du PPM	15
Figure.6	: Comparaison entre les teneurs en résidu sec des différents extraits	20
Figure.7	: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	21
Figure.8	: Courbe d'étalonnage de Quercétine	21
Figure.9	: Variation de la teneur des polyphénols / de la teneur en flavonoïdes dans les pulpes (MeOH/Eau)	24
Figure.10	: Variation de la teneur des polyphénols / de la teneur en flavonoïdes dans les noyaux (Acetone/Eau)	24
Figure.11	: Courbes de la variation de PI% en fonction de la concentration phénoliques du (Système : Methanol/Eau) dans le test DPPH.	26
Figure.12	: Courbes de la variation de PI% en fonction de la concentration phénoliques du (Système : Acetone/Eau) dans le test DPPH.	27
Figure.13	: courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	29
Figure.14	: Courbe représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques par le test de Phosphate molybdate (Système : Methanol/Eau)	30
Figure.15	: Courbe représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques par le test de Phosphate molybdate (Système : Acetone/Eau)	30
Figure.16	: Corrélation entre les EC ₅₀ du test DPPH des tourteaux et Les teneurs en polyphénols	32
Figure.17	: Les doubles liaisons et nombre et la position des groupements OH influençant sur l'activité antiradicalaire	33

Figure.18 : Corrélation entre les EC_{50} du test PPM des tourteaux et les teneurs en polyphénols **33**

Liste Des Tableaux

Tableau.1	: Teneurs en métabolites primaires des pulpes fraîches du <i>Zizyphus Lotus</i>	3
Tableau.2	: Composition en métabolites secondaires des différents organes du <i>Zizyphus Lotus</i>	4
Tableau.3	: Réactifs chimiques utilisés	10
Tableau.4	: Etat physique, couleur et le rendement d'extraction des extraits lipidiques de <i>Zizyphus Lotus.L</i>	18
Tableau.5	: Etat physique, couleur et le rendement d'extraction des extraits phénoliques de <i>Zizyphus Lotus.L</i> .	19
Tableau.6	: La teneur en phénols totaux et flavonoïdes des pulpes et des noyaux de <i>Zizyphus Lotus.L</i> .	22
Tableau.7	: Le pouvoir d'inhibition EC_{50} des différents extraits phénoliques pour le test DPPH.	28
Tableau.8	: Les valeurs d' EC_{50} des différents extraits phénoliques dans le test du PPM	31

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
I. Introduction générale	1
II. Matériel et méthodes	6
II.1. Matériel	7
II.1.1. Matériel végétal	7
II.1.1.1. Description botanique	7
II.1.1.2. Taxonomie de l'espèce	8
II.1.2. Lieu et climat des régions de la collecte des échantillons	8
II.1.3. Préparations des échantillons	9
II.1.4. Réactifs chimiques	10
II.2. Méthodes	10
II.2.1. Préparation des extraits lipidiques et phénoliques	10
II.2.1.1. Extraction des lipides	10
II.2.1.2. Extraction des extraits méthanoliques et acétoniques	11
II.2.2. Quantification des composés phénoliques par spectrophotomètre	11
II.2.2.1. Quantification des phénols totaux	11
II.2.2.2. Dosage des flavonoides	12
II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante	12
II.2.3.1. Test DPPH	13
II.2.3.2. Test du Phosphomolybdate (PPM)	15
III. Résultats et discussion	17
III.1. Teneurs en lipides	18
III.2. Teneurs en extraits méthanoliques et acétoniques	19
III.3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)	20

III.3. 1. Détermination de la teneur en composés phénoliques et en flavonoides.....	20
III.4. Evaluation de l'activité antioxydante	24
III.4.1.Le test chimique DPPH	24
III.4.2. Test phosphomolybdate PPM	28
IV. Conclusion générale	34
V. Référence Bibliographique	37
VI. Annexe	41
Résumé.....	44

Introduction générale

Introduction générale

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes aérobiques toutefois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives de l'oxygène. Aux doses faibles, les ERO (espèces réactives de l'oxygène) sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que transduction du signal. Aux doses excessives, les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme. La surproduction des ERO au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies chroniques telles que l'athérosclérose, le cancer, le vieillissement et d'autres maladies dégénératives. (**Amzal.H et al ;2016**)

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants s'avèrent utiles dans le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminés. (**Defraigne, J ;2007**).

Les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaires ont été explorés au cours des dernières années et la nécessité de les substituer par les antioxydants naturels, issus de plantes médicinales, est apparente. Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances ayant des activités bioactives et pharmacologiques très variées. (**Defraigne, J ;2007**).

Ces dernières années, des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de matière végétale, notamment le cas des composés phénoliques végétaux et les flavonoïdes, ces derniers ils suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leurs effets bénéfiques auprès de nombreuses affections, ainsi ils sont considérés en thérapeutique comme des agents préventifs de plusieurs maladies parmi lesquels celles associés au stress oxydant, tel que le cancer et les maladies cardio-vasculaires et qui ont fait l'objet de nombreuses recherches comme antioxydants naturels très puissant pouvant remplacer des antioxydants synthétiques. (**Bonnaillie et al ;2012**) ; (**Popovici et al ;2009**). En effet, de nombreux tests antioxydants tels que le test DPPH, ORAC, FRAP, PPM...etc, ont été développés *in vitro* pour

mesurer et évaluer l'activité antioxydante afin de pouvoir comparer et classer les antioxydants des différents aliments.

Zizyphus Lotus. L étant l'un des plantes largement utilisée dans la médecine traditionnelle. En outre, elle présente un grand intérêt sur le plan nutritif, cosmétique et médicinal. Ses activités anti-inflammatoires, analgésiques et antidiabétiques ont été largement soulignées.

(Bellakhdar ;1997) a rapporté que la pulpe fraîche des fruits de *Z.lotus* est riche en eau et en glucide. Le **tableau 1** présentent les principaux constituants et leurs quantités dans 100 g de pulpe fraîche. (Bellakhdar ;1997)

Tableau 1 : Teneurs en métabolites primaires des pulpes fraîches du *Zizyphus Lotus.L* (Bellakhdar ;1997).

Principale constituant	100g de pulpe fraîche
Eau	64g
Protides	1.2g
Lipides	0.3g
Glucide	32g
Valeurs calorifique	135 calories, ce chiffre se voit augmenter à 341 calories dans la pulpe sèche.

Zizyphus Lotus est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les antrachinones, 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* (Catoire et al ;1999).

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 cyclopéptidiques lotusines A-G	(Borgi et al. 2007(a)). (Borgi et al. 2007(b)).

Le miel de *Zizyphus Lotus* considéré comme étant l'un des miels les plus chers au monde, pour ses qualités thérapeutiques notamment contre les maladies du foie, de l'estomac et le diabète et autres, mais il est surtout recherché pour ses propriétés aphrodisiaques, il est très répandu au Maroc, en Tunisie et au Yémen. **(Ben atmani et al ;2019)**

Ces feuilles et l'écorce des racines possèdent une importante activité anti-ulcérogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par les effets gastro-protecteur, et ces fruits sont décrits comme adoucissant et entrent dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaires. **(Hamdad ; 2017)**

Les racines sont utilisées contre les maladies vénériennes comme la syphilis et la blennorragie. Le décocté des racines est utilisé par les personnes diabétiques comme hypoglycémiant. **(Hamdad ; 2017)**

Les racines astringentes prises en décoction soigne la diarrhée et est utilisée dans le traitement des hémorroïdes. Les feuilles de *Z.lotus* sont utilisées contre les piqûres des vipères au Sahara et les fruits sont préconisés dans le traitement de la gorge et les affections respiratoires (**Ben atmani et al ; 2019**)

Zizyphus Lotus a fait l'objet d'études à différents niveaux surtout phytochimique (**Ben atmani et al ; 2019 ; Dahbi et al ; 2020**) mais jusqu'à aujourd'hui, peu de recherches ont été réalisées sur l'activité antioxydante et particulièrement sur la fraction phénolique des fruits. Ceci nous a conduits à entreprendre ce travail de recherche, compte tenu de la disponibilité de ces fruits dans notre pays, pour les mettre d'avantage en valeur. Dans notre approche, nous avons surtout focalisé notre travail sur l'évaluation des potentialités que représentent ces fruits qualifiés par la caractérisation biochimique pour répondre à une question principale : Ces fruits sont-ils bénéfiques pour le consommateur et quelles sont les fractions qu'on peut éventuellement utiliser dans les domaines comme celui du cosmétique ou de la pharmaceutique. Les étapes suivantes ont été suivies afin de répondre à ces questions.

Dans une première partie, nous présentons des techniques d'extraction des fractions lipidiques, phénoliques et des dosages spectrophotométriques ainsi que l'activité antioxydante. La seconde partie consiste en une 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 II : Matériels et Méthodes

II.1. Matériels :

II.1.1. Matériel végétal :

II.1.1.1. Description botanique :

Zizyphus Lotus est un arbre ou arbuste épineux à croissance lente qui peut atteindre 10 m de hauteur et 50 à 60 cm de diamètre du tronc (Touati et al ; 2020) avec des branches rigides vertes et épineuses (Figure 1).



Figure 1: Morphologie générale de *Zizyphus Lotus*

Ses feuilles caduques glabres, dentées, ovales et courtement pétiolées, La face supérieure est verte foncée tandis que la face inférieure est verte pale. Les fleurs de *Z. jujuba* sont nombreuses, petites, 5 cm de largeur avec 5 pétales inaperçus et 5 sépales, hermaphrodite et jaunâtre .Elle a un long pédoncule floral et les étamines sont disposées en un cycle de 5. Elles sont groupées en inflorescence sous forme de cyme axillaire sessile. Ces fleurs fleurissent en juin et juillet. *Le jujubier* se reproduit très fréquemment par fécondation (Amzal H et al ; 2016). Le fruit de *Z. jujuba* appelé aussi «jujube» est une drupe ovale, charnue et consommable. D’abord verdâtre, présente la saveur et l’arôme d’une pomme puis devient rouge noir et ridé à maturité, avec un gout d’une datte, d’où son nom datte chinoise, et noire violacée éventuellement pour le jujube séché. Il est ovoïde-oblong, de 1,8 à 2 cm de long avec un court pétiole. Les noyaux, plus souvent détachables des pulpes, peuvent atteindre 1,05 cm de long (Dahbi et al ;2020)

II.1.1.2 Taxonomie de l'espèce :

Selon (Hamdad .H ;2017) la classification de l'espèce est :

Embranchement : Spermatophytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Sous classe : Dicotylédone.

Ordre : *Rhamnales*

Famille : *Rhamnacées*.

Genre : *Zizyphus*.

Espèce : *Zizyphus jujuba Mill.*

Nom vernaculaires :En français jujubier sauvage, jujubier des lotophages, Jujubier,Dindonnier.

En arabe :Sedra,Djerder, Azar,N'beg

II.1.2..Lieu et climat des régions de la collecte des échantillons :

La collecte a été effectuée au cours du mois de décembre 2020 au niveau de trois régions différents (**Figure 2**) :

- La région d'Azizia de la wilaya de Médéa qui caractérise par un climat méditerranéen
- La région de Ksar hirane de la wilaya de Laghouat qui caractérise par un climat semi-aride
- La région de Ghardaia qui caractérise par un climat aride

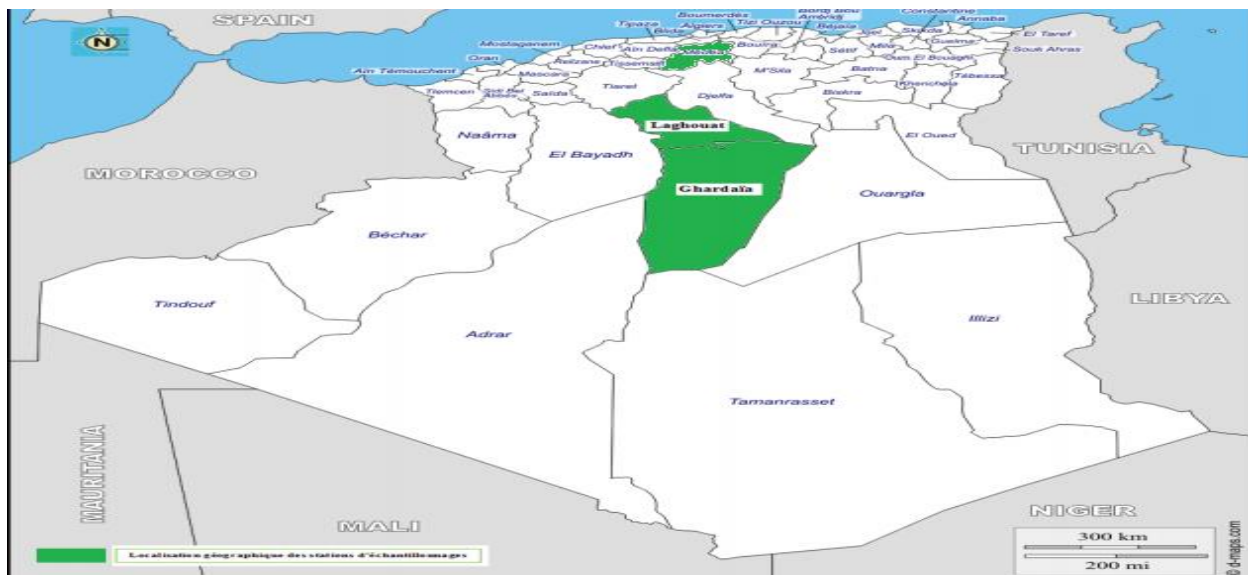


Figure 2 : Localisation géographique des stations d'échantillonnage.

II.1.3. Préparation des échantillons :

Après la récolte, les différentes parties de fruits (les pulpes et les noyaux) sont 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. (Figure3).

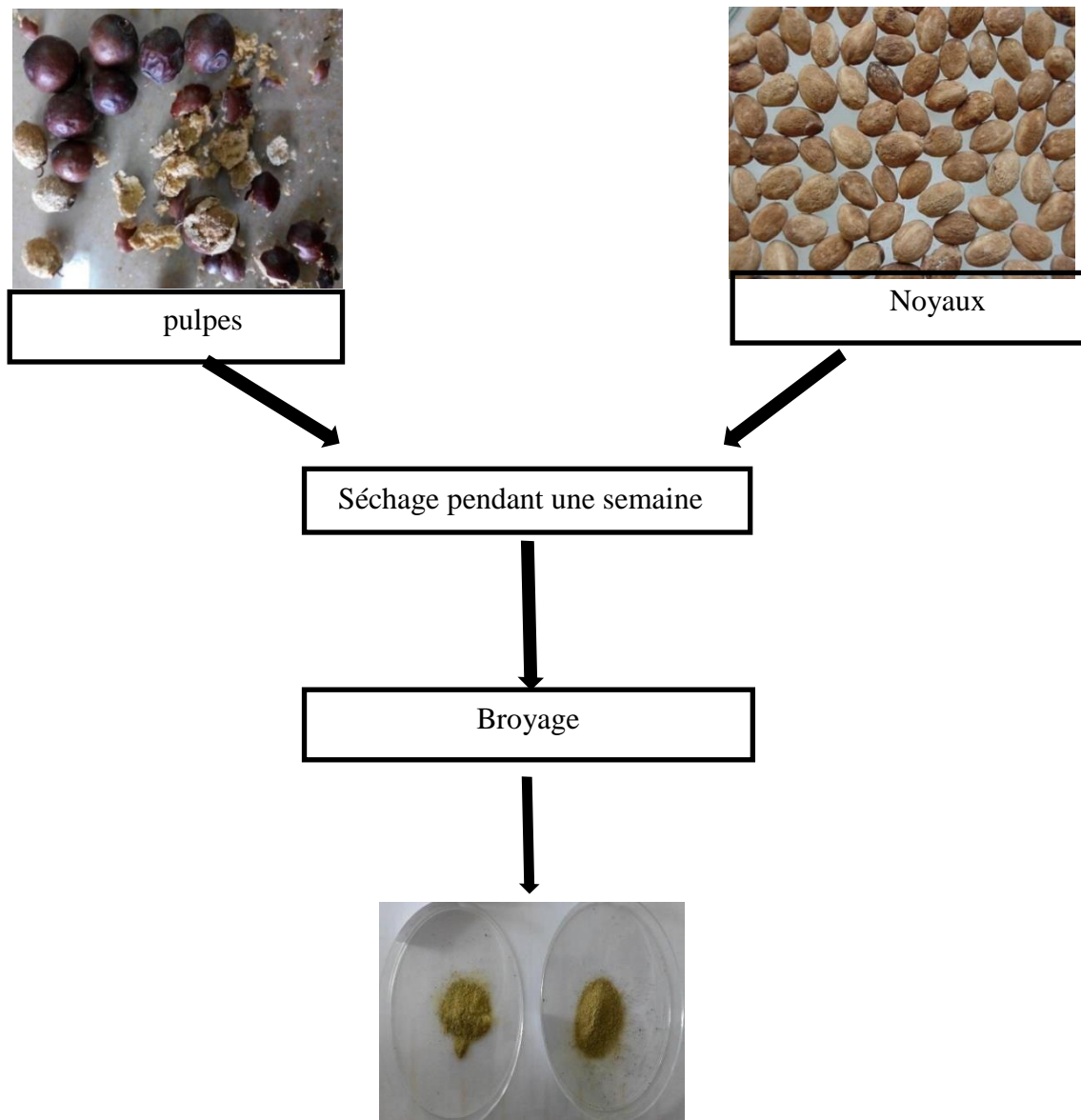


Figure 3 : Préparation des poudres de pulpes et noyaux de *Zizyphus Lotus*.

II.1.4. Réactifs chimiques :

Tous les produits utilisés dans ce travail sont d'un grade analytique élevé (**Tableau 3**).

Tableau 3: Réactifs chimiques utilisés.

Produits	Marques
Vitamine E (α -tocophérol)	Fluka
Méthanol, Acetone, Carbonate de sodium, Acide sulfurique ; Cyclohexane , Acétate d'éthyle, Acide gallique , réactif de Folin-Ciocalteu , Quercitine; DPPH, Molybdate, Acide sulfurique	Sigma-Aldrich
Sulfate de sodium anhydre	Biochem
Acide ascorbique(vitamine C).	Prolabo

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

II.2. Méthodes :

Notre étude a été guidée par la comparaison entre les différents échantillons de *Zizyphus Lotus L* (de trois régions différentes) selon deux paramètres :

1-La teneur en composés lipidiques et phénoliques (phénols totaux et flavonoïdes)

2-Activité antioxydant des différents extraits phénoliques

II.2.1.Préparation des extraits lipidiques et phénoliques :

II.2.1.1.Extraction des lipides :

Afin d'extraire et de déterminer la teneur en matières grasses de nos échantillons, nous avons choisi la méthode d'extraction solide liquide par macération à froid. En utilisant le cyclohexane comme phase liquide, pendant une durée bien précise. Les extraits sont ensuite séchés par sulfate de sodium anhydre. Après filtration et évaporation de cyclohexane sous pression réduite à 40°C. Les extraits obtenus représentent un aspect huileux de couleur jaune.

Chaque extrait est pesé et nous avons calculé la teneur en huile de chaque échantillon à l'aide de la relation :

$$Teneur\ en\ huile = \frac{Masse\ de\ l'extrait\ lipidique}{Masse\ de\ la\ prise\ d'essai\ (matière\ végétale)} \times 100$$

II.2.1.2.Extraction des extraits méthanoliques et acétoniques :

Il y a plusieurs méthodes d'extraction des composés phénoliques, nous avons choisi l'extraction assistée par ultrasons.

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquence allant de 20 à 100 kHz pour l'extraction des composés bioactives. Les effets mécaniques des ultrasons induisent une plus grande pénétration du solvant dans les matériaux cellulaires et améliorent le transfert de masse. **(Amzal.H ;2016)**

Pour ce faire, 10 g de chaque poudre délipidé des fruits (pulpes et noyaux) est mélangé avec 100mL de mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau) (80/20, V/V) ou hydro-acétonique (acétone/eau) (70/30, V/V). Ces mélanges subissent à l'extraction par l'ultrason pendant 30 minutes à température ambiante.

Après filtration sur papier filtre, le méthanol ou bien l'acétone est évaporé sous pression réduite et on récupérée la phase aqueuse. Cette dernière est traitée par acétate d'éthyle pour la purification des composés phénoliques. Le séchage de la phase organique est effectué par l'ajout du sulfate de sodium anhydre ensuite elle est filtrée sur papier filtre, et évaporée sous pression réduite. Le résidu récupéré est pesé puis solubilisé dans 10ml de méthanol, et conservé à 4°C jusqu'à leur analyse

II.2.2.Quantification des composés phénoliques par spectrophotomètre :

II.2.2.1.Quantification des phénols 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 flaveur 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 a été réalisé selon la méthode de Folin-Denis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_4$. En milieu alcalin, lors d'une oxydation, les polyphénols réduisent ces deux acides en oxydes de tungesténe W_8O_{23} , 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 0.01 et 0.30 g/l. 100 μ l de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500 μ l 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 (**Hadbaoui ;2012**)

II.2.2.2.Dosage des flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par (**Lamaison**) et (**Carnat. Delassi.L ;2016**). Lors de cette réaction les flavonoïdes réagissent avec le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). $AlCl_3$ a la capacité de se complexer avec les oxygènes des groupements hydroxyles des flavonoïdes, produisant ainsi un complexe de couleur jaune, dont l'absorbance est enregistrée à 412 nm.

1ml de chaque extrait dilué dans le méthanol est ajouté à 1ml de trichlorure d'aluminium à 2% (m/v) après incubation de 15min à température ambiante l'absorbance du mélange a été mesurée à 412 nm.

Dans cette méthode, la quercétine a été utilisée comme étalon (flavonoïde de référence).

II.2.3 Evaluation de l'activité antioxydante :

Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces et bon marché et que leurs doses autorisées sont largement limitées pour éviter tout problème de toxicité, on a assisté depuis des années à un engouement pour les produits naturels, et au développement d'extraits végétaux à usage antioxydants, qui auraient des propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies bien que le sujet soit en évolution permanente, Il nous a paru

nécessaire de faire le point sur cette question, d'autant que l'intérêt pour les antioxydants naturels, particulièrement les polyphénols s'expliquent aussi par leur rôle potentiel *in vivo* vis-à-vis des radicaux libres, via l'alimentation ou la pharmacologie. **(Djeridane.A ;2008)**

La capacité antioxydante des molécules peut être évaluée soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit de manière *in vitro*, en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique. Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* des extraits naturels, différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que les radicaux libres ou les complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capable d'inhiber la génération de radicaux. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs : soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron.

Les méthodes basées sur le transfert d'atome d'hydrogène mesurent la capacité globale d'un antioxydant à réprimer les radicaux libres par donation d'un atome d'hydrogène, alors que les méthodes basées sur le transfert d'électron mesurent la capacité d'un antioxydant à transfert d'électron qui réduira n'importe quel composé, incluant les métaux, les carbonyles et les radicaux **(Delassi.L ;2016)**.

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits des composés phénoliques a été réalisée par deux tests chimiques à savoir : le piégeage du radical libre DPPH et test phosphomolybdate (PPM).

II.2.3.1 Test du DPPH :

La méthode de DPPH a été largement appliquée pour estimer l'activité antioxydante ces dernières années **(Simona De Marino et al ; 2007 , Letitia M et al ; 2007 , Inga Klimczak et al ; 2007)** mais ses applications doivent être effectuées de telle façon que l'activité antioxydante soit liée à la structure de la molécule antioxydante. De même, dans le cas d'un mélange complexe, la présence présumée au moins d'un principe actif dans l'extrait devrait être identifiés pour pouvoir travailler en termes d'équivalences de la molécule de DPPH.

Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie **(Figure 4)**. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors, d'obtenir des

informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances de nos extraits. Il est donc prévu à fournir un lien avec les réactions ayant lieu dans un système d'oxydation, tel que l'autoxydation d'un lipide ou de toute autre substance insaturée

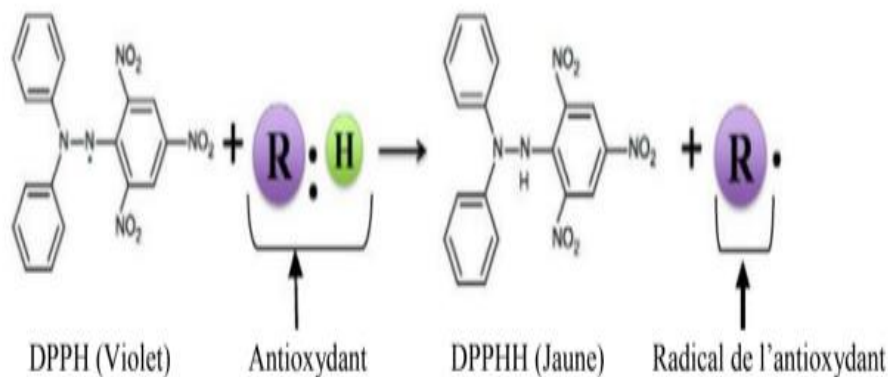


Figure 4: Réduction de radical libre DPPH

On mélange 1ml de chaque extrait phénolique avec un 1 ml d'une solution de DPPH (250 μ M) préparée dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été bien mélangé et incubé à l'obscurité pendant 30 min à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm contre un blanc.

L'activité antioxydante de nos extraits exprimée en EC_{50} , ce paramètre a été apparemment introduit par Brand Williams et ses collaborateurs et a été ensuite employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leur résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. (**Djeridane.A ; 2008**)

Egalement nous avons testé la vitamine C (un antioxydant commercial pris comme référence). Le pouvoir d'inhibition est exprimé en %, et déterminé en appliquant la formule suivante :

$$PI\% = \frac{A_t - A_{ech}}{A_t} \times 100$$

A_t : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A_{ech} : absorbance en présence d'extrait

II.2.3.2 Test du phosphomolybdate (PPM) :

Le test est basé sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à (V). Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/ Mo (V)) à un pH acide, ayant un maximum d'absorption à 695 nm. On mesure l'évolution de la coloration du complexe molybdène (V) en présence d'antioxydant (**Figure 5**). (**Pilar Prieto et al ; 1999**).

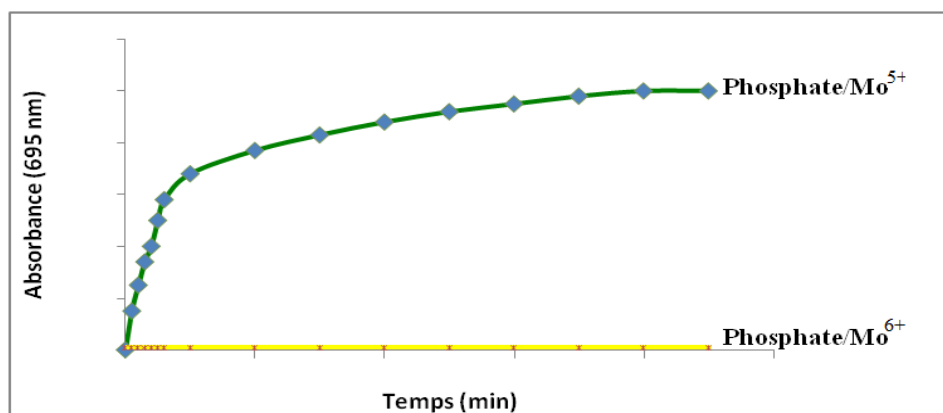


Figure 5 : Courbes cinétiques de la variation de l'absorbance en fonction du temps dans le test du PPM

Ce test a pour but d'évaluer le statut antioxydant, par la mesure du pouvoir réducteur des extraits dans une réaction colorimétriques d'oxydoréduction. En effet, 0.1 mL de chaque extrait dilué est ajouté à 1 mL du réactif phosphomolybdique (28 mM de phosphate de sodium, 4 mM de molybdate d'ammonium et 0,6 M d'acide sulfurique), puis le mélange est placé dans un bain marie à une température de 70 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage a été établie pour des différentes concentrations de vitamine C afin de référer le pouvoir antioxydant exprimé en VCEAC (vitamine C Equivalent Antioxydant Capacity) pour chaque extrait.

Egalement nous avons testé la vitamine E (un antioxydant commercial pris comme témoin).

Partie III : Résultats et discussion

III.1. Teneur des lipides :

La teneur, Etat physique (l'aspect) et la couleur des extraits lipidiques de pulpes et noyaux obtenus sont indiqués dans le **tableau(4)** suivant :

Tableau(4) : L'aspect, couleur et le rendement d'extraction des extraits lipidiques de *Zizyphus Lotus.L*

Echantillon	Couleur et aspect	Masse (g) du Résidu d'extrait acétate d'éthyle	Rendement d'extraction « % »
Pulpe de Medea	Jaune verdâtre liquide	0.316	0.79
Pulpe de Laghouat	Jaune verdâtre liquide	0.073	0.18
Pulpe de Ghardaia	Jaune verdâtre liquide	0.502	1.25
noyau de Medea	Jaune verdâtre solide	2.27	7.57
noyau de Laghouat	Vert foncé solides	2.57	6.42
noyau de Ghardaia	Vert foncé solides	3.89	9.72

L'extrait lipidique de pulpes obtenu présente une couleur jaune verdâtre et une odeur agréable, avec un aspect liquide à température ambiante, cela peut être dû à leurs richesses en acides gras insaturés. Pour les noyaux, le résultat d'extraction montre que les trois échantillons se solidifient partiellement à température ambiante et cela est dû à l'existence des acides gras saturés ou des cires dans ces extraits lipidiques.

Comme il est illustré dans le **tableau(4)**, la teneur en matière grasse varie, en fonction de la partie étudiée des fruits (Pulpe ou noyau), exprimée en g% de la matière sèche. Il est à signaler, que la teneur en matière grasse des noyaux varie de 6.42 à 9.72% par contre le rendement d'huile dans les pulpes de nos fruits est faible 0.18 à 1.25% du poids sec, on peut dire que les noyaux de *Zizyphus Lotus.L* possèdent un caractère d'oléagineuses.

Abdeddaim Mohamed, et **Touati.R** en travaillant sur les propriétés nutritionnelles et physico-chimiques des fruits du *Zizyphus Lotus* la région des Aurès et de Laghouat, ont

signalé une teneur de 0.79 % d'huile extraite des pulpes de matière fraîche. Cette teneur est similaire, en la comparant avec nos résultats. (Abdeddaim.M ;2016) , (Touati.R et al ;2020)

III.2.Teneur en extraits méthanoliques et acétoniques :

Chaque partie choisie du fruit pour extraction a subi rigoureusement le même traitement de séchage et l'extraction. Les extraits méthanoliques et acétoniques. ainsi obtenus présentent généralement un aspect pâteux, de couleur marron jaunâtre (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Etat physique, couleur et le rendement d'extraction des extraits méthanoliques et acétoniques.

Echantillon	Système d'extraction	Couleur et aspect	Masse (g) du Résidu d'extrait acétate d'éthyle	Rendement d'extraction « % »
Pulpe de Medea	MeOH/Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.47	18.63
Pulpe de Laghouat	Acétone/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.20	3.92
Pulpe de Ghardai	MeOH/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.31	12.16
noyau de Medea	Acétone/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.32	6.38
noyau de Laghouat	MeOH/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.15	5.87
noyau de Ghardaia	Acétone/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.21	4.11
Pulpe de Medea	MeOH/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.25	9.86
Pulpe de Laghouat	Acétone/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.14	2.78
Pulpe de Ghardaia	MeOH/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.22	8.65
noyau de Medea	Acétone/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.40	7.98
noyau de Laghouat	MeOH/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.10	3.94
noyau de Ghardaia	Acétone/ Eau	Marron jaunâtre pâteux	0.38	7.43

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous remarquons que les rendements des extraits de pulpes du système d'extraction (MeOH/Eau) varient de 5.8 à 18.6% et de 3.92 à 6.38% pour le système d'extraction (Acetone/Eau) où il est constatable que la plus importante quantité du résidu sec a été trouvée dans les pulpes de Medea . Concernant les noyaux, le taux de résidus sec le plus élevé est extrait par le solvant hydro-Méthanolique (80/20 v/v) dans l'échantillon de Médéa (9.86%) et de Laghouat (8.65%) par contre le taux le

plus élevé dans les noyaux de Ghardaïa est extraite par le solvant hydro-Acetonique (7.43%) (Figure 6).

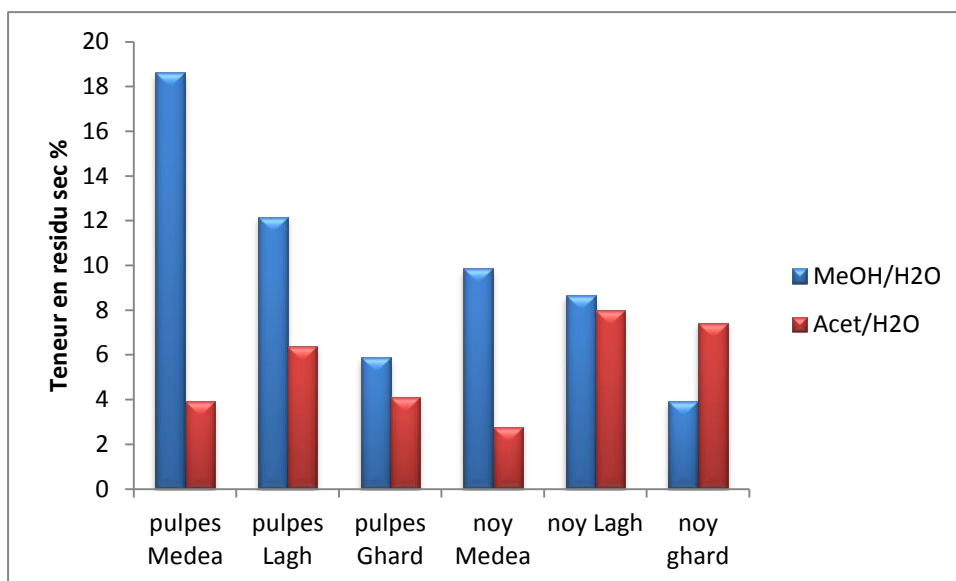


Figure 6 : Comparaison entre la teneur en résidu sec des différents extraits

En comparaison avec d'autres études effectuées sur les fruits de *Zizyphus Lotus.L* (Dahbi et Abdellaoui ;2020), il apparaît que notre fruits (pulpes et noyaux) sont riche en résidu sec quelque soit le solvant utilisé, on note ici que la méthode d'extraction et les régions des échantillons sont différentes dans les deux études.

III.3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible) :

III.3.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes :

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de fruits a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes équivalent en acide gallique par 100 gramme de tourteaux (Figure 7). De même la quantité des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine et exprimée en milligrammes équivalent en quercétine par 100 gramme de tourteaux (Figure 8). Les résultats obtenus sont présentés (le tableau 6) .

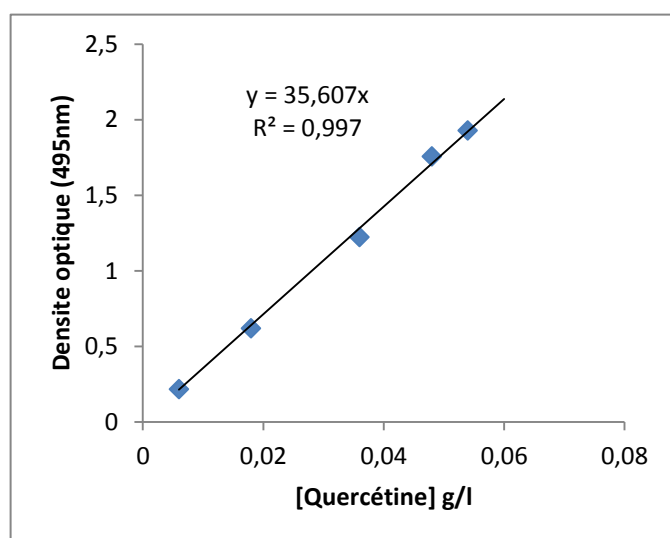
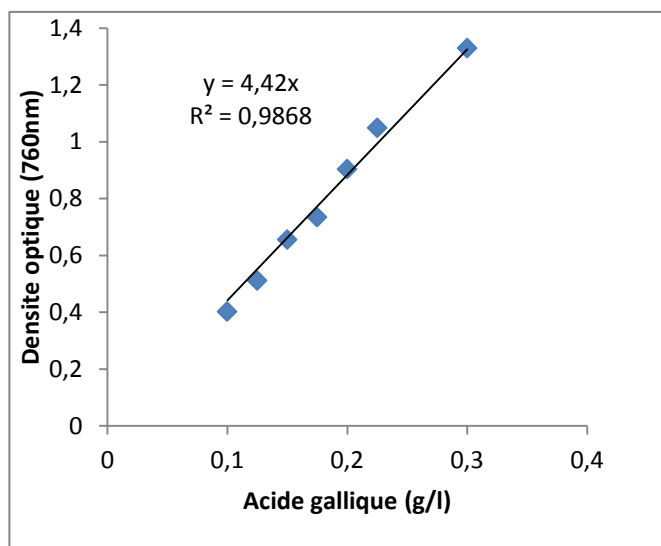


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Figure 8 : Courbe d'étalonnage de quercétine

D'après la synthèse de l'ensemble de résultats obtenus lors de la quantification des phénols totaux obtenus par ultrason hydro-alcoolique (MeOH/Eau : 80/20 v/v), on peut constater que les teneurs dans les pulpes varient entre 20.36 et 41.8 mg GAE/100 g de tourteaux. Les taux des composés phénoliques les plus élevés ont été détectés dans les pulpes et les noyaux de Ghardaia , tandis que, les teneurs les plus basses sont remarquées dans les pulpes et les noyaux de Medea quand on utilise le solvant (Acetone/Eau : 80/20 v/v), (**Tableau 6**).

En outre, nous avons enregistré que les extraits qui ont donné les rendements les plus importants en résidu sec (**Tableau 5**) ont offert des teneurs plus basses en phénols totaux. Une explication simple pourra être retirée de ce résultat, c'est que le résidu de ces échantillons renferme des molécules autres que les composés phénoliques.

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, les pigments et d'autres composés réducteurs qui peuvent interférer pendant le dosage des phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu.

Les teneurs totales en composés phénoliques dans les fruits de *Zizyphus Lotus*.L étudiées sont relativement moins élevées que celles rapportées dans la littérature (**Amzal.H, 2016**). Les observations dévisagées peuvent être attribuées à des différents facteurs tels que : l'origine géographique, espèce étudiée et les méthodes d'extractions et de dosages.

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 graines 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.M ;2016**). A cet effet, nous avons choisi dans notre étude deux mélanges hydro-méthanolique et hydro-acétonique avec un rapport (80/20) et (70/30) en volume respectivement puis une purification par l'acétate d'éthyle qui un bon solvant pour l'extraction des composés phénoliques. Ce choix de cette méthodologie est basé sur une littérature indiquant l'utilisation de ce type de solvants pour extraire les composés phénoliques ayant des activités importantes (**Djeridane.A ; 2004**)

Tableau 6 : La teneur en phénols totaux et flavonoïdes des pulpes et des noyaux

Echantillon	Système d'extraction	Teneur en phénols totaux (mg/100g) équivalent en acide gallique	Teneur en flavonoïdes (mg/100g) équivalent en quercétine
Pulpe de Medea	MeOH/Eau	37.7±0.10	51.38±0.41
	Acétone/ Eau	20.96±0.23	48.71±0.32
Pulpe de Lagh	MeOH/ Eau	20.36±0.15	30.51±0.17
	Acétone/ Eau	23.84±0.27	55.56±0.25
Pulpe de Ghardai	MeOH/ Eau	41.8±0.36	58.76±0.35
	Acétone/ Eau	43.13±0.57	54.61±0.65
noyau de Medea	MeOH/ Eau	38.27±0.25	19.90±0.25
	Acétone/ Eau	7.47±0.01	31.24±0.20
noyau de Lagh	MeOH/ Eau	25.84±0.23	37.88±0.15
	Acétone/ Eau	25.04±0.36	44.09±0.22
noyau de ghardaia	MeOH/ Eau	41.06±0.62	37.34±0.10
	Acétone/ Eau	42.96±0.29	49.14±0.38

Dans notre travail, le dosage du contenu en flavonoïdes a été déterminé spectrométriquement par la méthode du chlorure d'aluminium qui est utilisée spécifiquement pour la quantification des flavones et flavonols (*Benalia.M ; 2016*). Par conséquent, les résultats obtenus ne dévoilent pas les quantités des flavonoïdes totales exactes dans les fruits investigués. A cet effet et pour obtenir une estimation proche de ces substances dans ces fruits, il faut utiliser la technique de 2,4-dinitrophénylhydrazine en tant qu'une méthode complémentaire pour le dosage des flavanones et dihydrofavonol (*Popova M et al ; 2004*). Les valeurs des quantités de flavonoïdes obtenus sont comprises entre 30.51 à 58.76 mg EQ/100g de la matière sèche pour les pulpes et de 19.9 à 49.14 mg EQ/100g de la matière sèche pour les noyaux. Si on compare les taux des flavonoïdes extraites par les deux systèmes (Methanol/Eau : 80/20 v/v) et (Acetone/Eau : 70/30 v/v), nous constatons que la forte teneur en flavonoïdes dans les pulpes est remarqué dans les extraits méthanoïques tandis que dans le système acétonique/eau les noyaux registrent le taux le plus élevées.

Egalement, nous avons remarqué que les teneurs des flavonoïdes dans les extraits sont supérieurs à celles des phénols totaux ce qui n'est pas raisonnable. Cette différence pourra être due aux phénols standards utilisés pour la préparation des courbes d'étalonnage ou même aux méthodes choisies pour le dosage.

Egalement nous avons représenté la variation de la teneur des polyphénols en fonction de la teneur en flavonoïdes (**Figure 9,10**). 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 $R^2 = 0.94$) dans les extraits hydro-Methanoliqes et hydro-acetoniqes respectivement. Ce résultat peut être traduit par le fait que la quantité des flavonoïdes varie proportionnellement avec tout le contenu en polyphénols d'un échantillon à un autre et que les graines étudiées renferment en général un matériel polyphénolique riche en composés flavonoïdiques

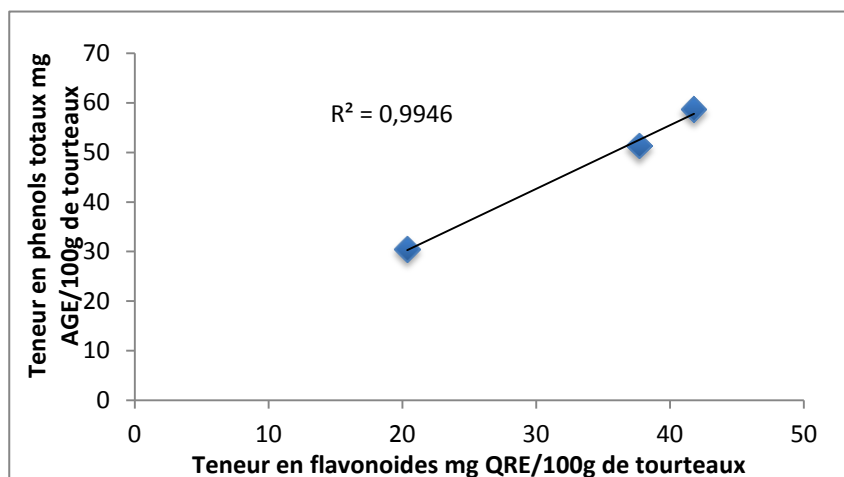


Figure 9 : Variation de la teneur des polyphénols / de la teneur en flavonoïdes dans les pulpes
(MeOH/Eau)

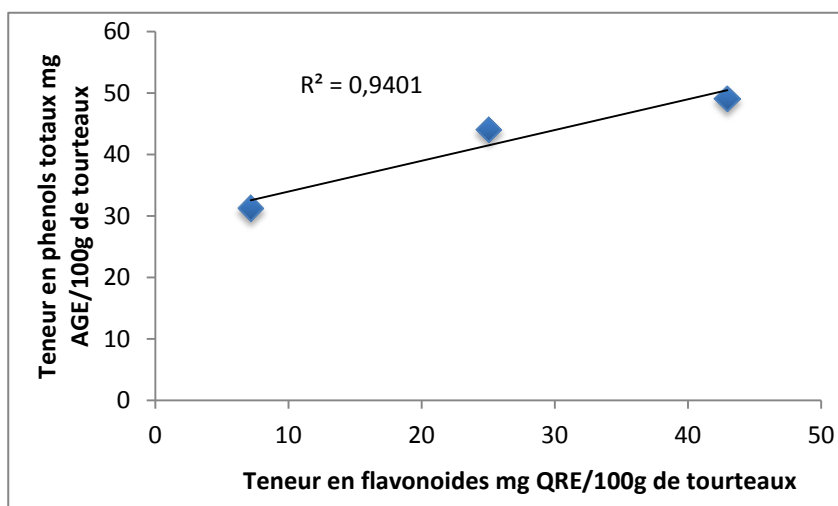


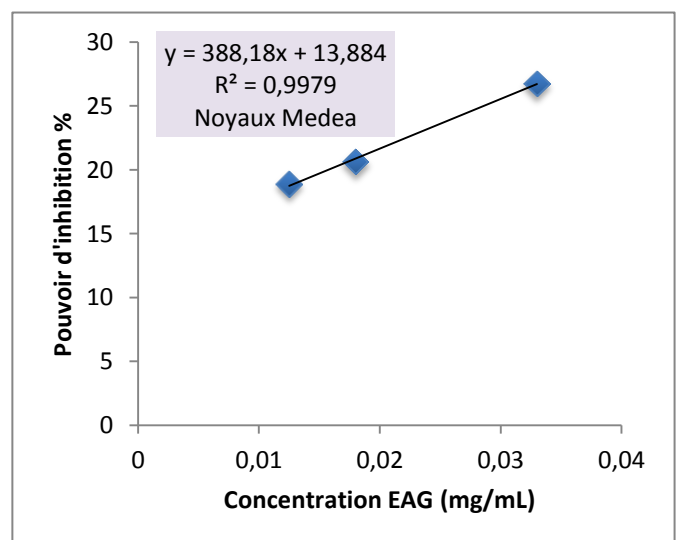
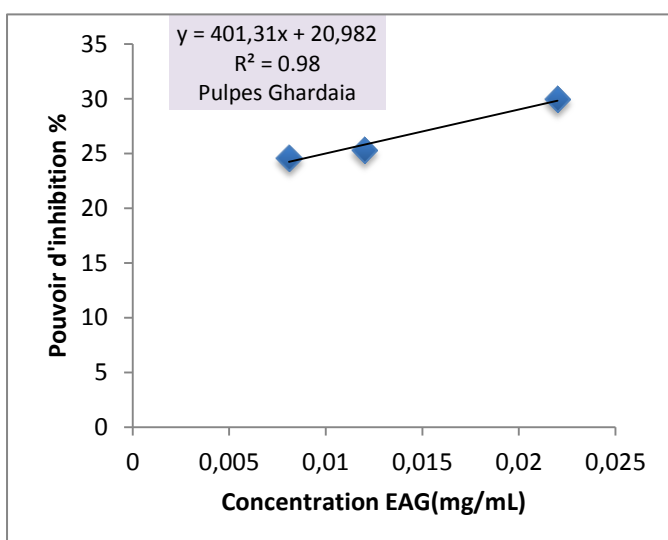
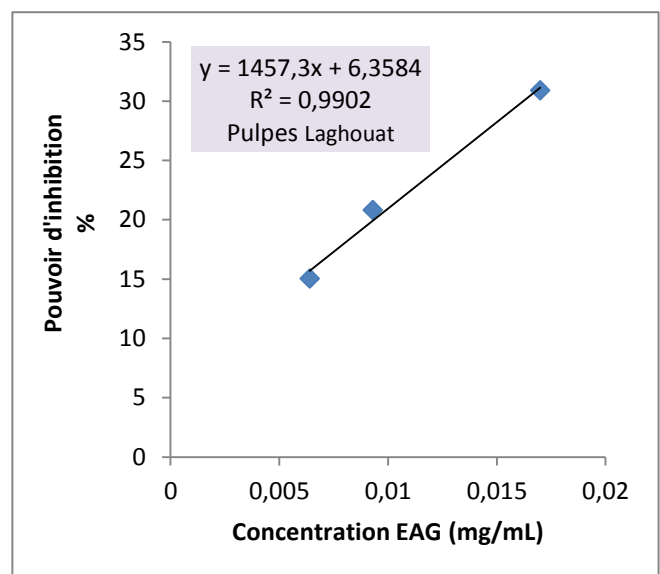
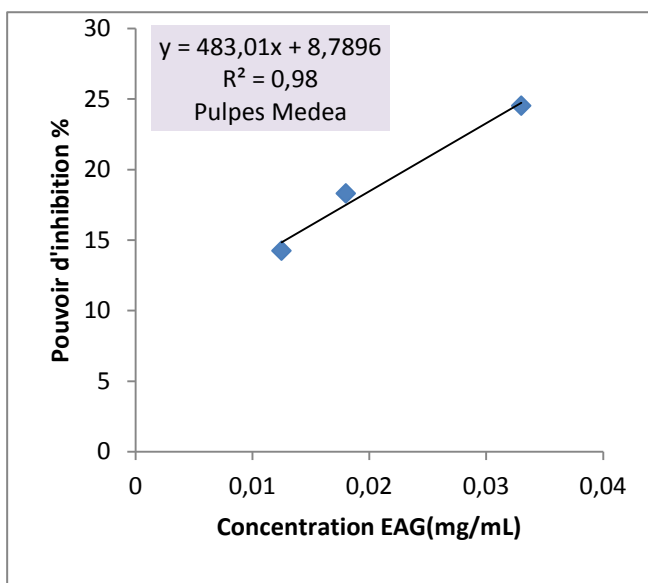
Figure 10 : Variation de la teneur des polyphénols / de la teneur en flavonoïdes dans les noyaux
(Acetone/Eau)

III.4. Evaluation de l'activité antioxydante :

III.4.1. Le test chimique DPPH :

Les mesures de la diminution de l'absorbance du DPPH provoquées par la présence des extraits après 30 minutes ont permis de déterminer le pouvoir antioxydant des différents extraits. Le pouvoir d'inhibition (PI) a été exprimé en présence de différentes dilutions en fonction de la concentration après 30min d'incubation à température ambiante à l'obscurité. Les dilutions sont effectués de sorte que le coefficient de corrélation (R^2) de ces tracés soit supérieur à 0,90.

L'efficacité antioxydante des extraits phénoliques testés exprimée ensuite par le paramètre EC_{50} « efficient concentration » qui représente la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Les valeurs de EC_{50} sont déterminées pour chaque extrait phénolique à partir des représentations graphiques $\%_{inhibition} = f(\text{concentrations d'extraits})$, **Figure.11,12**. De même, nous avons calculé l' EC_{50} des antioxydants de référence la vitamine C (l'annexe) à fin de la comparer avec ceux des extraits phénoliques. Les valeurs calculées d' EC_{50} (mg/ml) par rapport aux tourteaux et les valeurs calculées d' EC_{50} (mg/ml) par rapport à l'acide gallique pour les différentes concentrations des extraits sont regroupées dans le **Tableau 7**



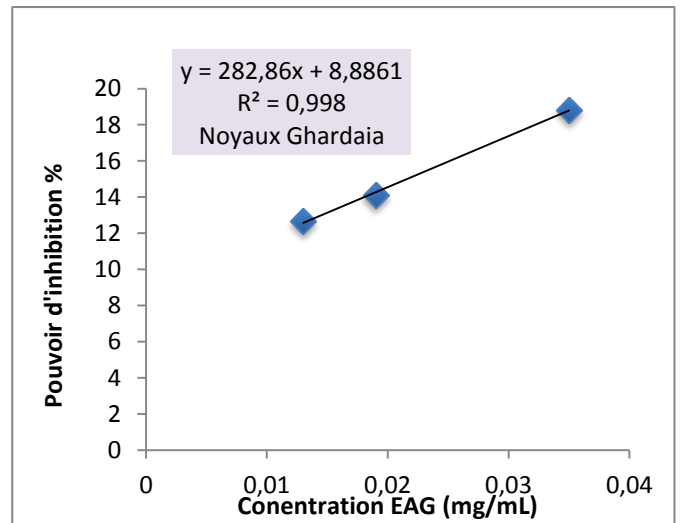
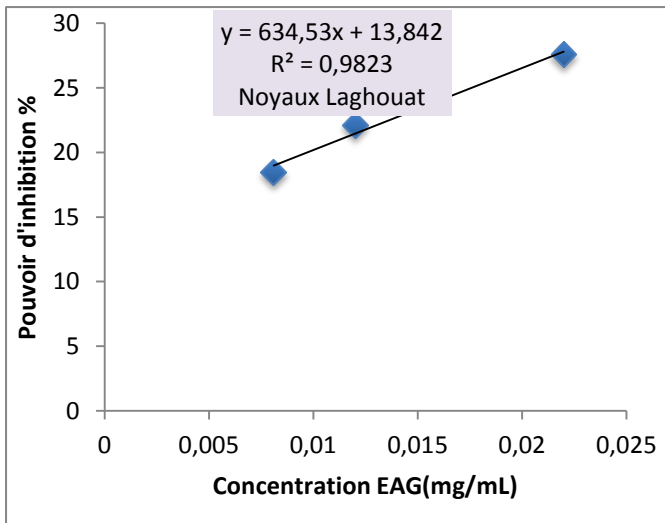
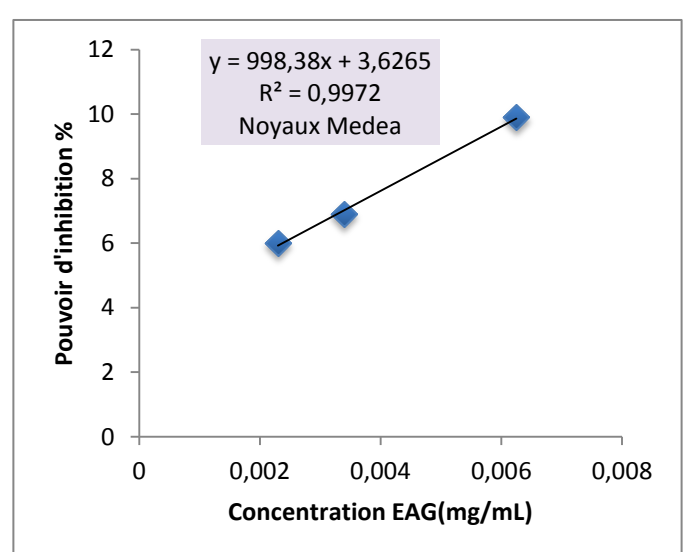
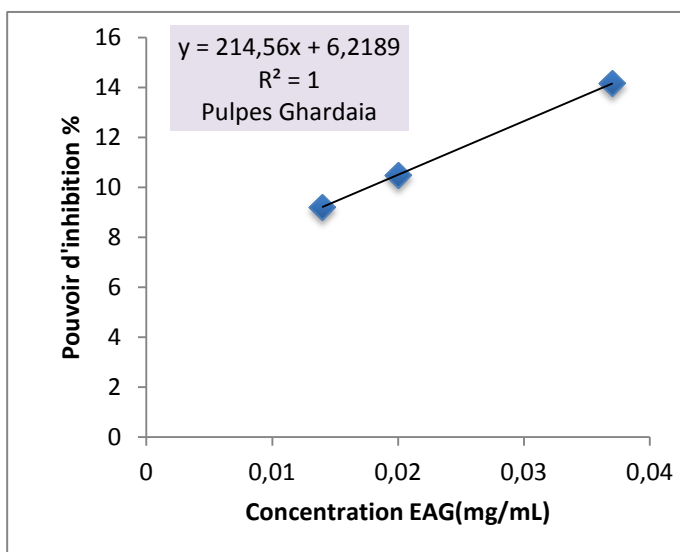
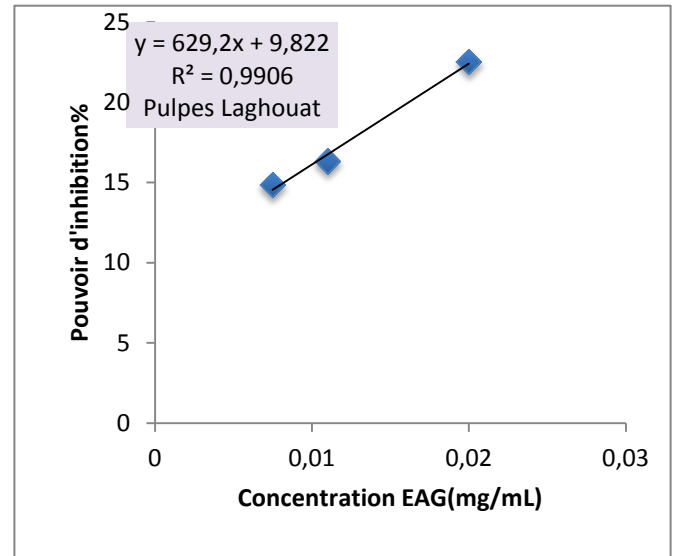
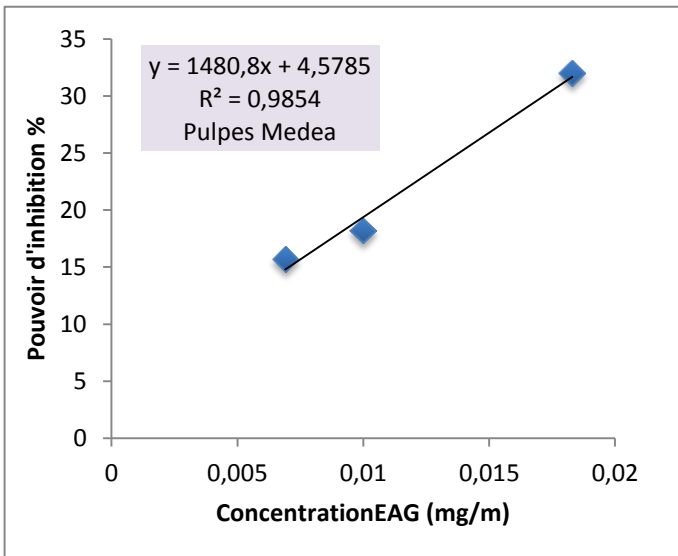


Figure 11. Courbes de la variation de PI% en fonction de la concentration phénoliques du (Système : Methanol/Eau) dans le test DPPH



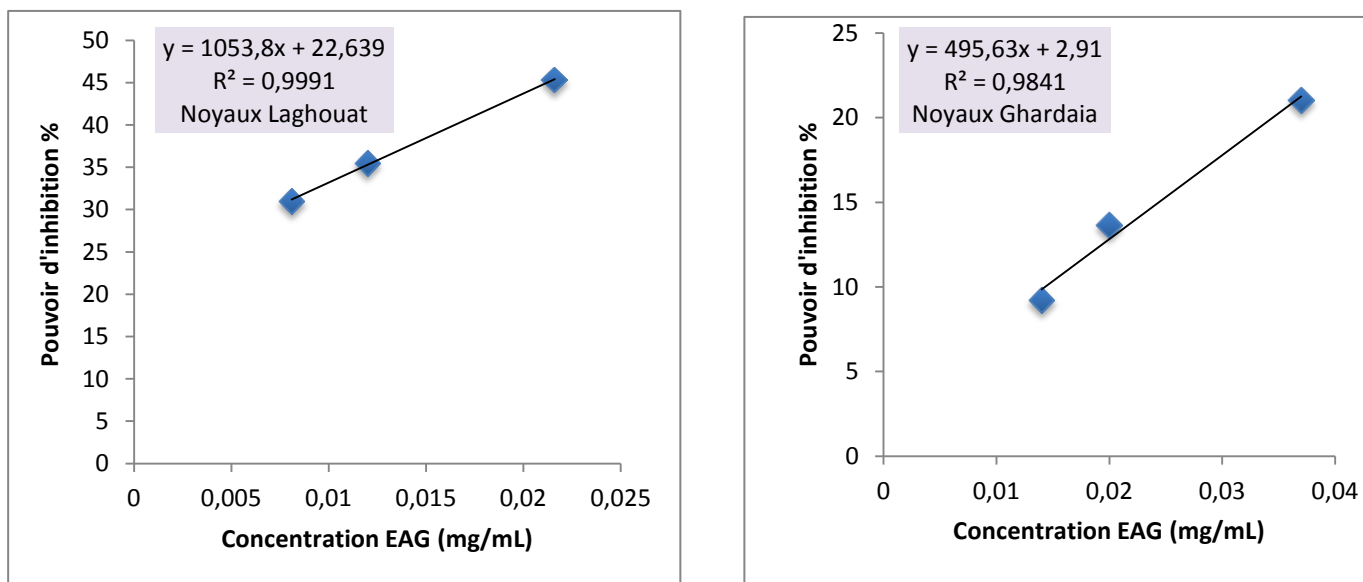


Figure 12 : Courbes de la variation de PI% en fonction de la concentration phénoliques du (Système : Acetone/Eau) dans le test DPPH

Les profils de l'activité antiradicalaire obtenus révèlent que l'ensemble des extraits phénoliques des pulpes ont un pouvoir antioxydant supérieur aux extraits phénoliques des noyaux quelque soit le solvant utilisé par exception l'échantillon de Laghouat ou le pouvoir antioxydant des noyaux est plus supérieur que les pulpes

La comparaison de l'activité antiradicalaire obtenue pour les différents extraits phénoliques de *Zizyphus Lotus.L* indique que les pulpes ont affiché un pouvoir antiradicalaire allant de 0.030au 0.20 mg.mL⁻¹. Les pulpes les plus actives sont observées dans l'extrait hydro méthanoïque de Laghouat. Tandis que les extraits acétoniques des pulpes de Ghardaia ont donné un statut antiradicalaire faible.

L'activité antiradicalaires des noyaux varie en même sens que les pulpes dont les noyaux de Laghouat sont les plus actifs avec un EC50/AG égal à 0.026mg/mL par contre les noyaux de Ghardaia possèdent un pouvoir antiradicalaire égal à 0.145 mg/mL .Cependant, nous avons constaté que nos extraits se présentent comme des agents antioxydants relativement puissants par rapport à d'autres extraits de l'arbre déjà étudiées (**Ben atmane et al ;2020**)

On peut remarquer aussi que l'activité antioxydante des extraits phénoliques acétoniques et méthanoliques des pulpes et des noyaux dans ce test ne varie pas dans le même sens, à titre d'exemple, dans les pulpes de Laghouat, la valeur de EC50/AG atteint 0.03 mg/mL dans l'extrait méthanolique contre 0.064 mg/mL dans l'extrait acétonique, même remarque peut être enregistrée pour les noyaux de Laghouat ou EC50/AG égal à 0.026mg/mL et. 0.056mg/mL pour les extraits acétoniques et méthanolique respectivement.

Les extraits acétoniques des échantillons étudiés présentent des effets antioxydants supérieurs à l'antioxydant standard (la vitamine C) à l'exception de l'échantillon de Ghardaia (pulpes et noyaux) qui est 2 fois moins actif que la vitamine C.

Tableau 07: Le pouvoir d'inhibition EC_{50} des différents extraits phénoliques pour le test DPPH.

Extrait	EC ₅₀ des extraits phénoliques			
	MeOH/H ₂ O		Acetone/H ₂ O	
	EC ₅₀ /tourteaux (mg/ml)	EC ₅₀ /AG (mg/ml)	EC ₅₀ /tourteaux (mg/ml)	EC ₅₀ /AG (mg/ml)
Pulpes Medea	20.31 ± 1.80	0.085±0.003	5.59 ± 0.21	0.03±0.002
Noyaux Medea	11.81 ± 0.33	0.093±0.002	17.2 ± 0.08	0.046±0.002
Pulpes Laghouat	9.1 ± 0.58	0.030±0.006	17.04 ± 0.40	0.064±0.006
Noyaux Laghouat	9.43 ± 0.06	0.056±0.003	5.4 ± 0.44	0.026±0.006
Pulpes Ghardaia	8.156 ± 0.062	0.072±0.006	19.35 ± 0.41	0.20±0.012
Noyaux Ghardaia	6.84 ± 0.23	0.145±0.03	16.25 ± 0.01	0.095±0.003
<i>EC₅₀ Vitamine C : 0.069 ±0.003mg/ml</i>				

III.4.2. Test molybdate :

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits a été déterminée à partir de courbe étalonnage vitamine C (**Figure13**) exprimé en VCEAC (vitamine C Equivalent Antioxydant Capacity) pour chaque extrait

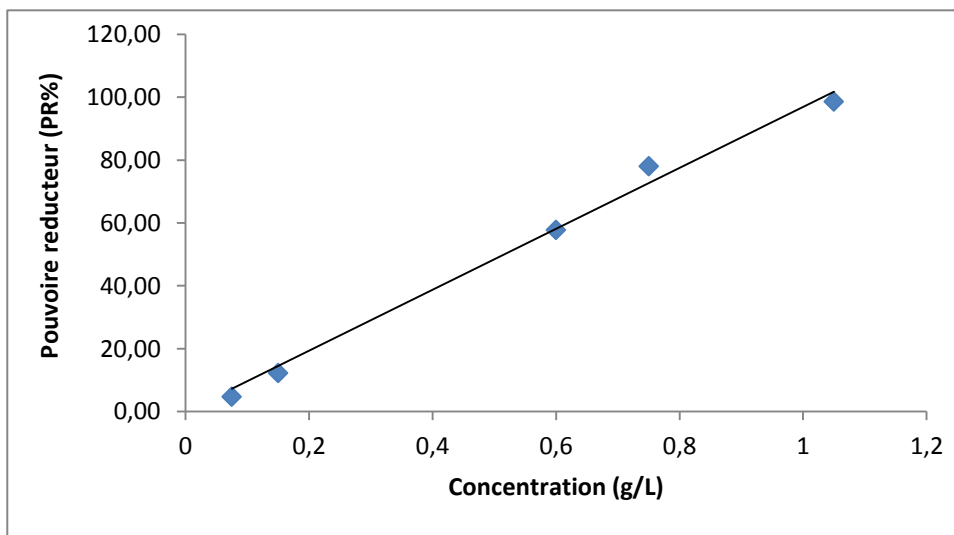


Figure 13 : courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

La capacité antioxydante totale des extraits phénoliques des pulpes et noyaux testés a été exprimée par EC50 (concentration effective à 50%). L'estimation de la capacité antioxydante totale des extraits bruts a montré une importante variabilité en fonction de l'organe étudié et la nature du solvant utilisé pour l'extraction (**Tableau 8**).

Les valeurs de EC50/AG variant de 0.024 à 0.19mg/mL pour noyaux de Medea et noyaux de Ghardaia respectivement pour les extraits hydro-acétoniques et de 0.06 à 0.14 mg/mL pour pulpes de Ghardaia et noyaux de Laghouat respectivement pour les extraits hydro-méthanoliques. Certains extraits acétoniques possèdent des activités antioxydants supérieures que ceux des extraits méthanoliques (à l'exception l'échantillon de Ghardaia) ce qui permet de dire que l'activité antioxydante de ces extraits varie en fonction du solvant d'extraction utilisés (**Figure14,15**). Ces résultats peuvent être expliqués de fait que les structures chimiques des composés phénoliques extraites par l'acétone sont caractérisées par des effets réducteurs puissants.

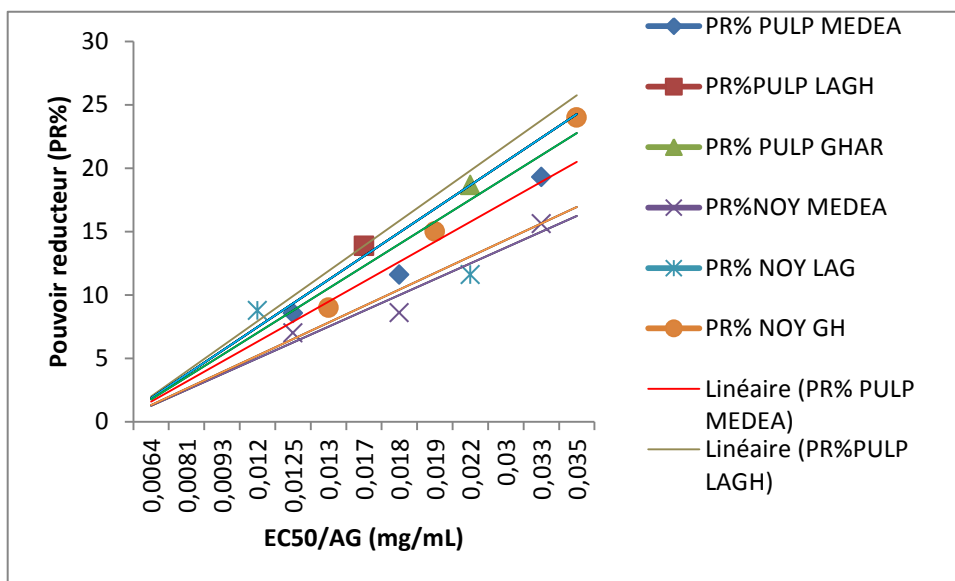


Figure 14 : Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques
Par le test de Phosphate molybdate (Système : Methanol/Eau)

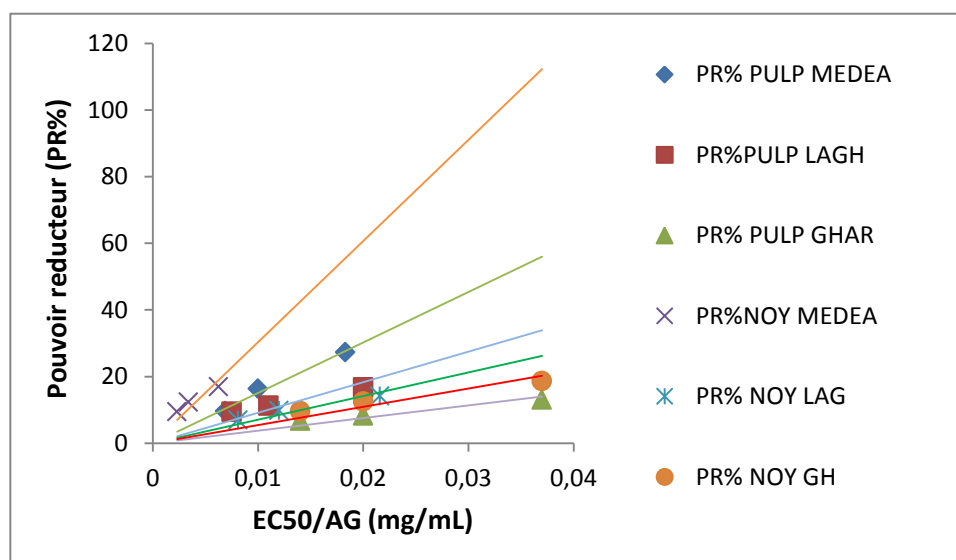


Figure15. : Courbes représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques
Par le test de Phosphate molybdate (Système : Acetone/Eau)

En comparaison avec l'antioxydant standard, tous les extraits testés s'avèrent plus actifs que la vitamine E qui exhibe presque le même statut antioxydant à titre d'exemple les pulpes de Medea sont 17 fois plus actives que la vitamine E.

Tableau 8 : Les valeurs d'EC₅₀ des différents extraits phénoliques dans le test du PPM

Extrait	EC ₅₀ des extraits phénoliques			
	MeOH/H ₂ O		Acetone/H ₂ O	
	EC ₅₀ /tourteaux (mg/ml)	EC ₅₀ /AG (mg/ml)	EC ₅₀ /tourteaux (mg/ml)	EC ₅₀ /AG (mg/ml)
Pulpes Medea	9.28 ± 1.80	0.091± 0.001	6.04 ± 0.21	0.033±0.006
Noyaux Medea	14.38 ± 0.33	0.11± 0.02	8.92 ± 0.08	0.024±0.006
Pulpes Laghouat	23.22 ± 0.58	0.075± 0.02	20.50 ± 0.40	0.077±0.003
Noyaux Laghouat	23.31 ± 0.06	0.14± 0.03	15.46 ± 0.44	0.09±0.006
Pulpes Ghardaia	6.85 ± 0.062	0.06± 0.01	16.2 ± 0.41	0.17±0.07
Noyaux Ghardaia	3.49 ± 0.23	0.074±0.01	20.24 ± 0.01	0.19±0.02
<i>EC₅₀ Vitamine E Commerciale : 0,53 ±0.02mg/ml</i>				

Les résultats trouvés dans le présent travail indiquent l'existence d'une corrélation significative entre le test DPPH et les composés phénoliques méthanoliques avec ($R^2=0.90$ (pulpes), $R^2=0.76$ (noyaux)). Les extraits phénoliques acétonique des pulpes possèdent une très bonne corrélation avec les EC₅₀ de test DPPH ($R^2=0.99$) et une corrélation faible entre les extraits acétoniques des noyaux et le test DPPH ($R^2=0.47$), ce qui permet d'attribuer l'activité antiradicalaire de nos extraits à leur richesse en composés phénoliques portant des groupement hydroxyles servir comme donneur de proton. Ces résultats suggèrent que les extraits phénoliques ayant la capacité de piéger le radical DPPH (**Figure16**).

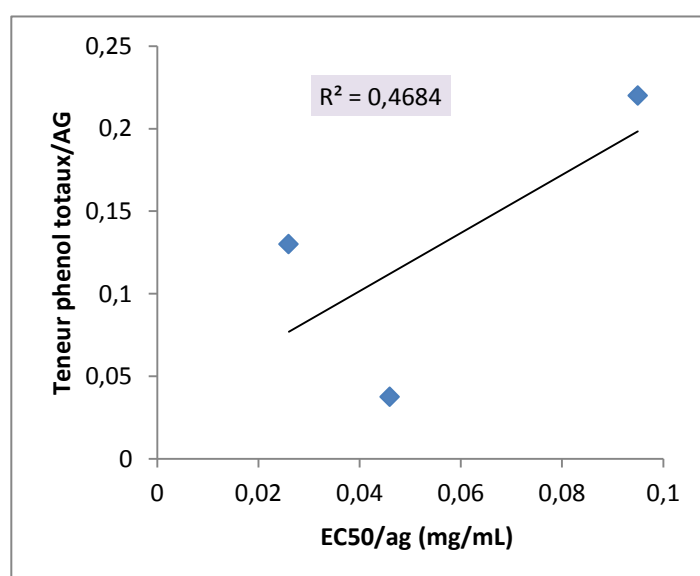
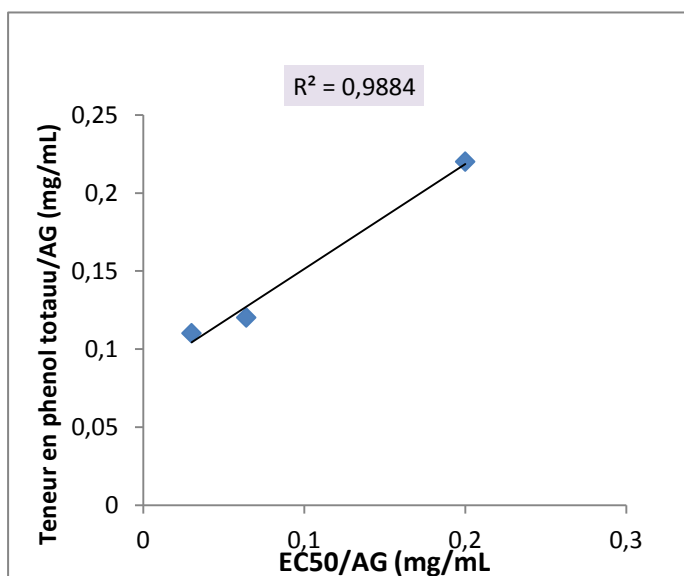
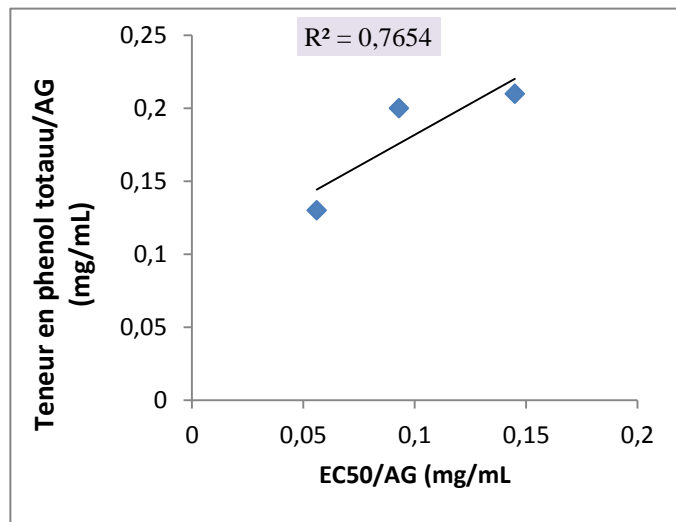
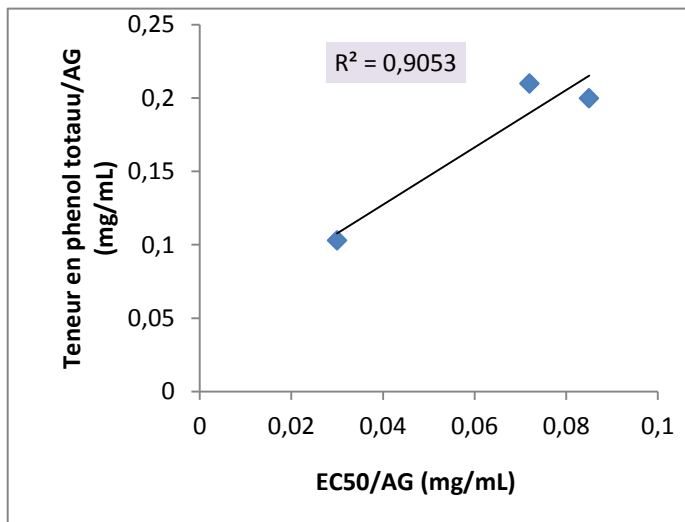


Figure16. : Corrélation entre les EC₅₀ du test DPPH des tourteaux et Les teneurs en polyphénols

La position de la double liaison dans le cycle C ainsi que le nombre et/ou la position des groupements hydroxyles (OH), sont les éléments les plus importants pour expliquer l'augmentation ou la diminution de l'activité antiradicalaire de nos extraits phénoliques (Figure 17).

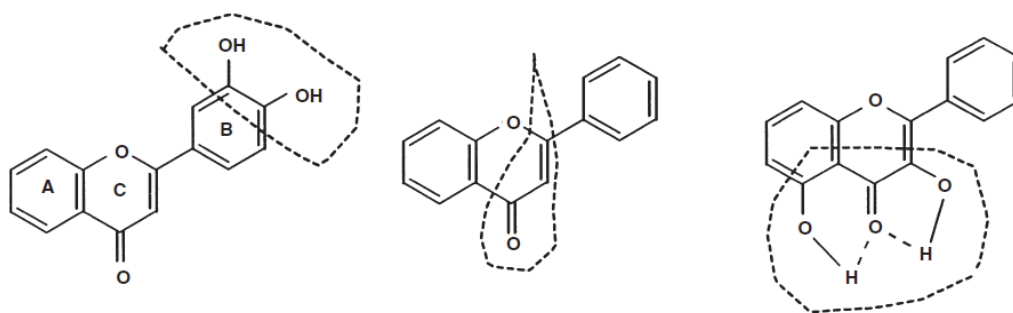


Figure17 : Les doubles liaisons et nombre et la position des groupements OH influençant sur l'activité antiradicalaire

On a essayé aussi de trouver une corrélation linéaire entre les valeurs d'EC₅₀ de test PPM et les teneurs en polyphénols des pulpes et des noyaux étudiées, on remarque qu'il y avait une bonne corrélation entre ce test et les extraits phénoliques acétoniques de pulpes et des noyaux ($R^2 = 0,94$; $R^2 = 0,98$ respectivement) , Ces résultats suggèrent que ces extraits phénoliques ayant une capacité réductrice certaine (**Figure18**).

Cependant, une faible corrélation et non significative ($R^2 = 0,013$ et $R^2 = 0,004$) a été mise en évidence entre le pouvoir réducteur de test PPM des extraits méthanoliques (pulpes et noyaux) et leurs teneurs en composés phénoliques.(Annexe)

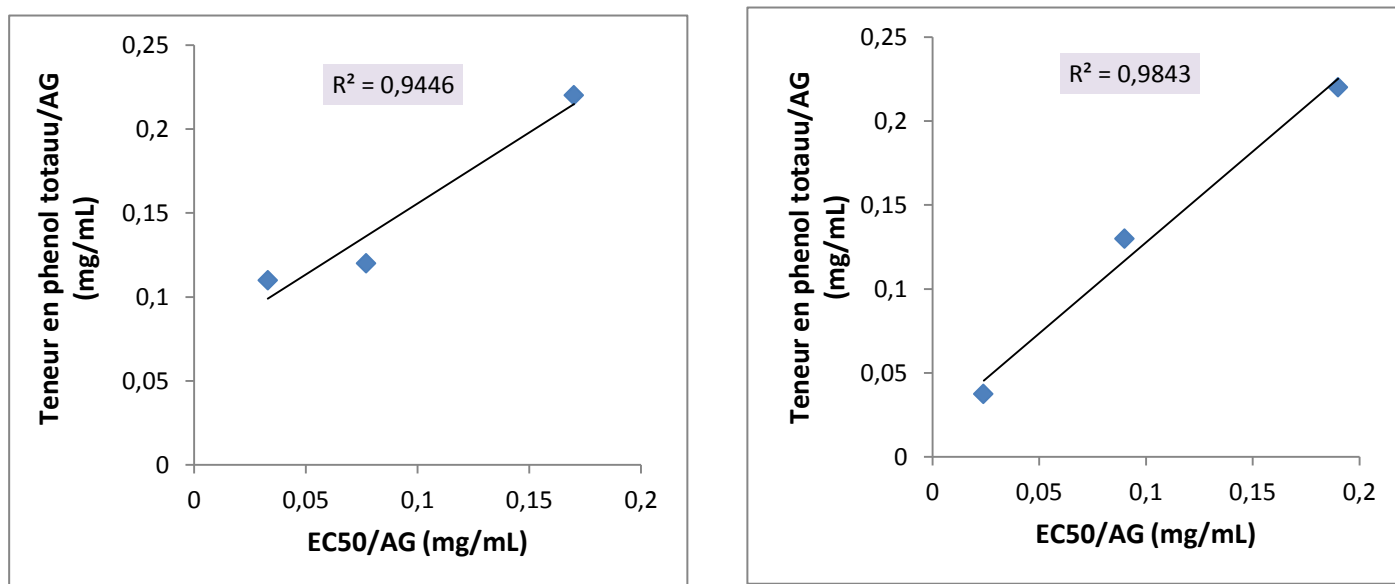


Figure18 : Corrélation entre les EC₅₀ du test PPM des tourteaux et les teneurs (%) en composés phénoliques.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Le présent travail avait pour but l'étude phytochimique et biologique d'une plante médicinale *Zizyphus Lotus* locale, choisie sur la base de leur usage traditionnel.

L'objectif de cette étude était d'apporter des éléments pour la validation de certaines propriétés de plante étudiée, l'identification de leur principe actif et la mise au point des méthodes de dosage et d'évaluation des activités antioxydante.

Pour ce faire l'extraction des lipides et des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation des principes actifs. Elle dépend à la fois du solvant d'extraction et de la nature de l'organe étudié (pulpes et noyaux). Nous avons tenté, dans un premier temps d'extraire des lipides par macération à froid en utilisant le cyclohexane comme solvant. La détermination de la teneur en huile révèle la richesse des noyaux de fruits de *Zizyphus Lotus* (9.72%) par rapport aux pulpes ou le taux d'huile atteint 1.25% dans les trois échantillons étudiés.

Ensuite nous avons consacré l'extraction des composés phénoliques par extraction solide-liquide en utilisant deux solvants choisis de manière à solubiliser un maximum de composés. Les différents extraits obtenus ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour le contenu en polyphénols et en flavonoïdes. Considérant les organes, les pulpes de fruits de *Zizyphus Lotus* accusent les teneurs les plus élevées en ces composés allant de 20.36 à 43.13 mg EAG /100g de la matière sèche. Pour noyaux étudiés contiennent des teneurs variables en polyphénols allant de 7.47 à 42.96mg EAG /100g des tourteaux. Ces résultats ont montré que les pulpes de fruits de *Zizyphus Lotus* est plus riche en polyphénols par rapport aux noyaux. Par ailleurs, nous avons démontré que le méthanol aqueux est le meilleur extracteur des flavonoïdes contenant dans cette espèce (58.76 Mg EQ/100g de la matière sèche).

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits/fractions a été réalisée par deux méthodes à savoir : le piégeage du radical libre DPPH. , la capacité antioxydante totale (test molybdate). Nous avons constaté que les différents extraits bruts testés présentent des activités antiradicalaire et antioxydante intéressante, dépendantes du contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes. une relation linéaire a été établie entre l'activité antioxydante (DPPH et PPM) et la teneur en composés phénoliques; les fractions les plus riches en polyphénols totaux étant les plus actives.

En effet, les paramètres qui peuvent agir sur les capacités antioxydantes des extraits sont le pH du milieu réactionnel, la solubilité, la concentration et la structure des composés phénoliques ainsi que la présence de certains agents biologiques qui peuvent agir en synergie avec les molécules.

Comme perspective, il est important de compléter ce travail en étudiant d'autres méthodes d'extraction aussi d'autres parties de cette plante pour voir quelle est la méthode d'extraction la plus efficace et quelle partie de cette espèce donne l'activité antioxydante la plus élevée.

Références bibliographiques

A et B

Abdeddaim M.(2016). Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique. Université Ferhat Abbas Sétif. (Mémoire master).

Amzal Hakima et Tamaguelt Ouardia, (2016). Optimisation d'extraction assistée aux ultrasons de composés phénoliques et l'activité antioxydante des différentes parties de *Ziziphus jujuba* (feuilles, pulpe et graines). Université Abderrahmane Mira de Bejaïa.(mémoire de master en Biologie).

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.

Ben atmani Wahiba, Ben hacine Djouhar. (2019). Etude phytochimique du *Zizyphus Lotus* .Université Amar thelidji Laghouat. (Mémoire de master en Biologie).

Benalia M., (2016). Etude de la fraction lipidique de quelques graines de cucurbitacées, Université Kasdi Merbah- Ouargla (Thèse de Doctorat).

Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E., Saykova I., (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.), Revue de génie industriel 7, 35-45.

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., Ghedira K., Chouchane N. (2007(a)). Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus Lotus* root barks. Fitoterapia, n° 78, p.16-19

C et D

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

Dahbi Abdelwahab,Abdellaoui Belkheir,(2020).Etudes des composés phénoliques de *Zizyphus Lotus* "Sedra " local.Universite de Laghouat.Mémoire de master)

Defraigne, J. and Pincemail, J (2007). "Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités."
Rev Med Liège 62: 1-10

Dellassi .L.(2016).,Optimisation d'extraction des polyphénols de deux variétés local du sorgho et évaluation de leurs activités antioxydantes. Université Amar thelidji. Laghouat. (Mémoire de master en chimie organique appliquée).

Djeridane., A.,(2008). Evaluation du pouvoir antioxydant et de l'inhibition d'enzymes (la Carboxylestérase et l'Acylase) par des extraits phénoliques de dix-neuf plantes médicinales locales, .L'école Normale Supérieure De Kouba-Alger. (thèse de doctorat).

G,H,I, et L

Gao, Q. H., Wu, C. S., & Wang, M. (2013). *The jujube (Ziziphus jujuba Mill.) fruit: a review of current knowledge of fruit composition and health benefits.*Journal of agricultural and food chemistry, 61(14), 3351-3363

Hadbaoui .Z.(2012).,Etude de l'activité antioxydante des fraction lipidique, protéique et phénoliques des graines des sorgho et de mil locaux. Kasdi Merbah-Ouargla.(Thèse de doctorat)

Hamdad Hayet, (2017).Conditions optimales de la germination des graines de *Ziziphus lotus L.* à différentes températures et durées de trempage (Provenance: Beni Snous, Tlemcen). Université de Tlemcen. (**Mémoire de master**)

Inga Klimczak, Maria Malecka, Mirosława Szlachta and Anna Gliszczyńska-Świgło, (2007) . Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. Journal of Food Composition and Analysis, (2007) Vol 20 (3-4), PP : 313-322.

Letitia M. McCune and Timothy Johns, (2007). Antioxidant activity relates to plant part, life form and growing condition in some diabetes remedies. Journal of Ethnopharmacology, Vol 112 (3), PP : 461-469

M,N et P

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

Naznin A., Hasan N., (2009). *In Vitro* Antioxidant Activity of Methanolic Leaves and Flowers Extracts of *Lippia Alba*, Research Journal of Medicine and Medical Sciences, 4(1): 107-110

Pilar Prieto, Manuel Pineda, and Miguel Aguilar,(1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. Analytical Biochemistry, Vol 269, PP: 337–341.

Popovici C., Saykova I., et Tylkowski B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. e-Revue de génie industriel [en ligne], Numero 4 (2009), 23 août 2010. Disponible sur Internet : <http://www.revue-genie-industriel.info/document.php?id=951>. ISSN 1313-8871.

S,V,T et W

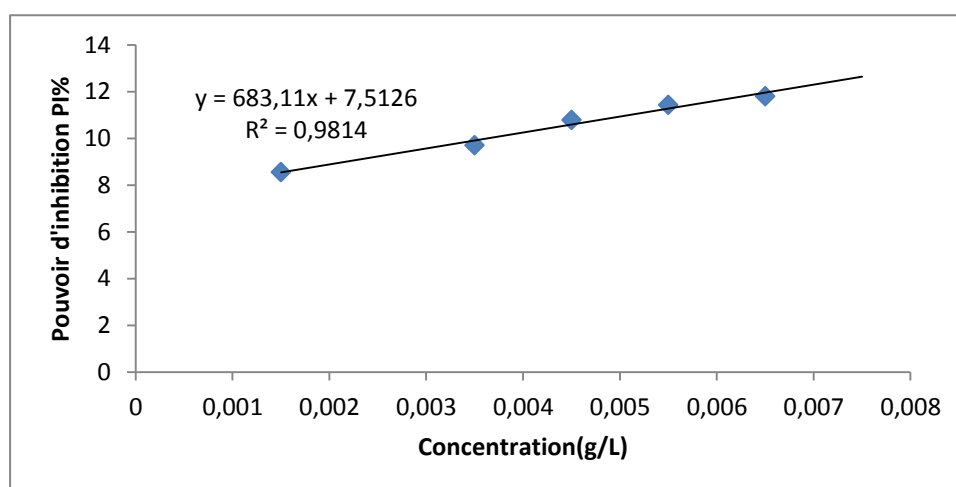
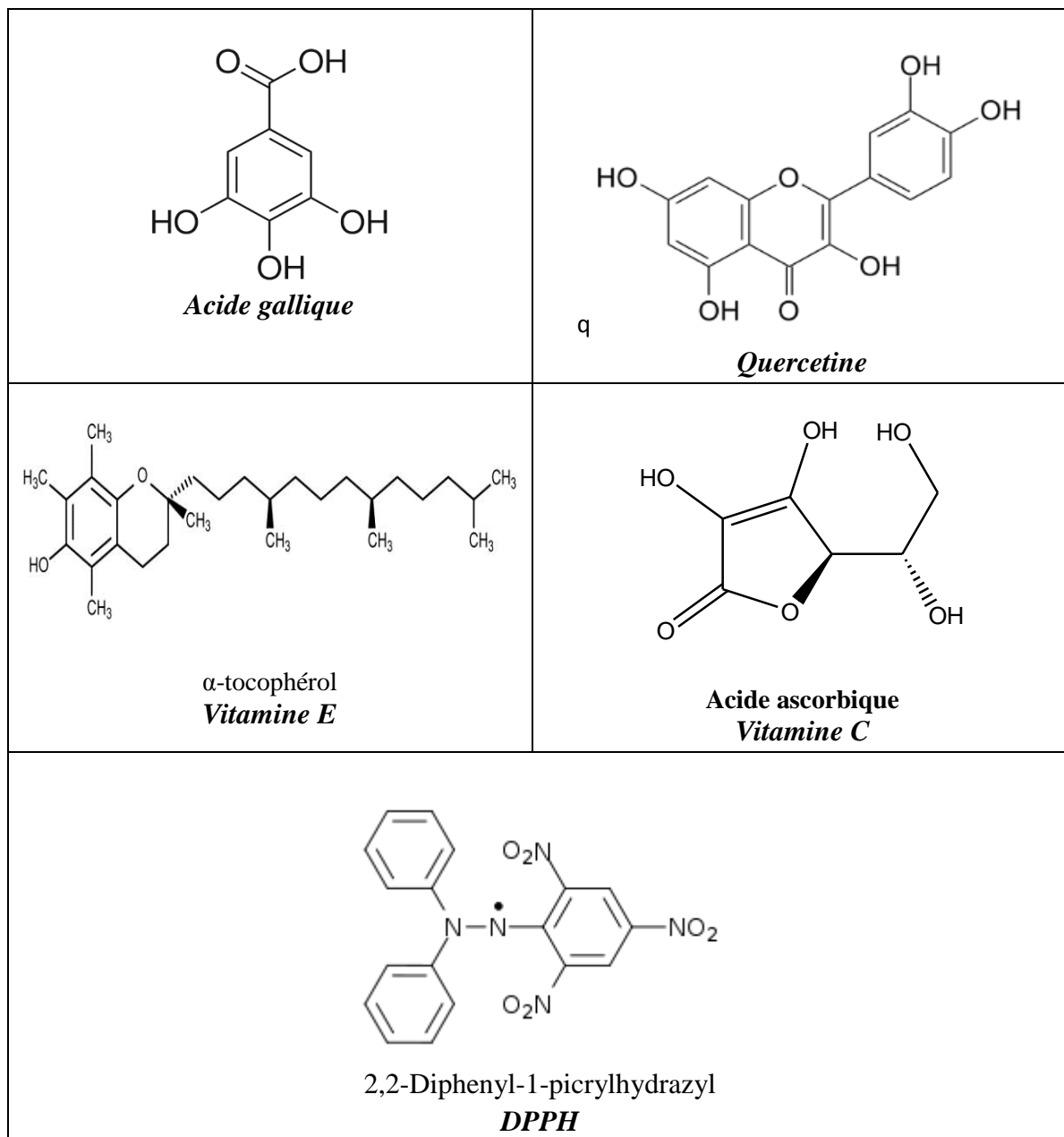
Schaich K.M., Tian X., Xie J., (2015). Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”, Department of Food Science, Rutgers University, 65 Dudley Rd., New Brunswick, NJ 08901-8520, USA, Journal of Functional Foods I8, pp782-796

Simona De Marino, Fulvio Gala, Nicola Borbone, Franco Zollo, Sara Vitalini, Francesco Visioli and Maria Iorizzi, (2007). Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity. Phytochemistry, Vol 68 (13), PP: 1805-1812.

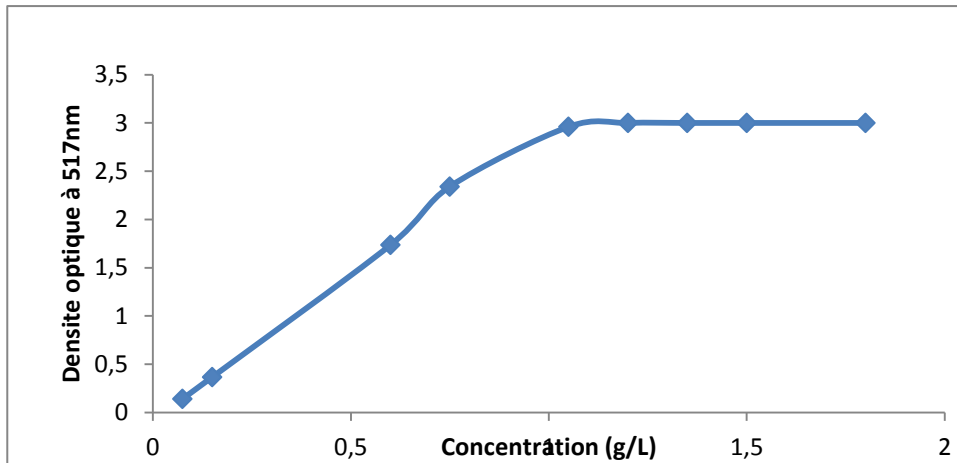
Touati Rouguia, Yousfi El hamra, (2020).Evaluation des métabolites primaires de *Zizyphus Lotus* de Laghouat Université Amar thelidji. Laghouat. (Mémoire de master en chimie organique appliquée).

Widad Ourzeddine ,(2018). Etude Chimique et Biologique de Plantes Médicinales Algériennes, cas des Espèces *Zizyphus Lotus* et *Fagonia longispina*. Université frères Mentouri Constantine.Thèse de doctorat (LMD)

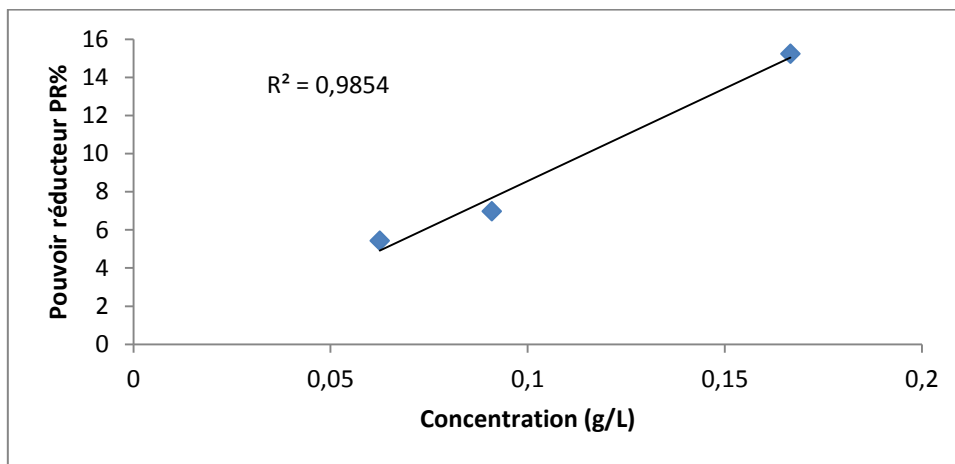
Annexe



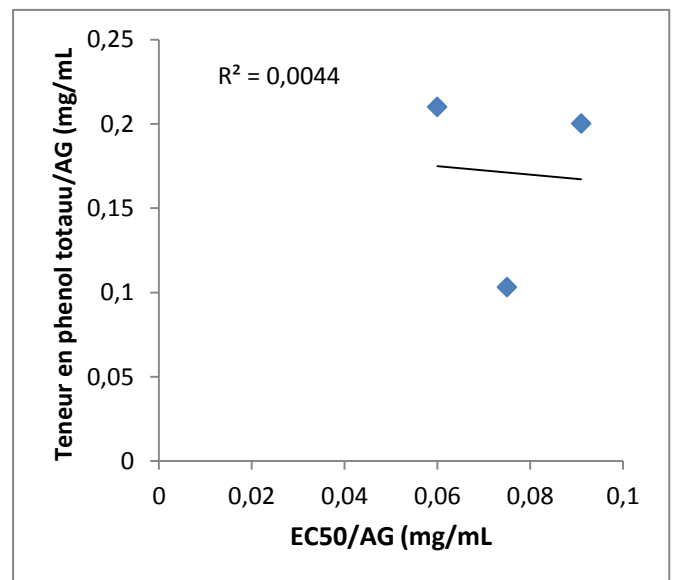
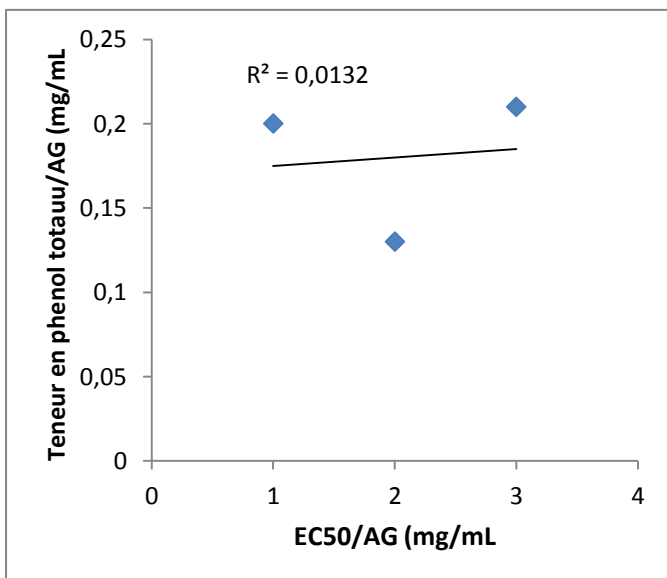
Courbes standard de la vitamine C pour le test de DPPH



Courbe de la saturation de vitamine C (test PPM)



Courbes standard de la vitamine E pour le test de PPM



Corrélation entre les EC₅₀ du test PPM des tourteaux et les teneurs (%) en composés phénoliques (MeOH/H₂O) A pulpes et B noyaux

ملخص

اجريت هذه الدراسة لتقييم المركبات الليبيدية و الفينولية و النشاط المضاد للاكسدة لثمار نبات السدر (القشرة و النواة) لثلاث مناطق مختلفة: المدينة (مناخ متوسطي) و الاغواط (مناخ شبه جاف) و غرداية (مناخ جاف). اثبتت الدراسة من خلال استخلاص الزيوت ان النواة غنية بالزيت حيث تتراوح النسبة ما بين 6.42 و 9.72 % مقارنة بالقشرة حيث نسبة الزيت ما بين 0.18 و 1.25 % من المادة الجافة . تم تحديد التحليل الكمي للمركبات الفينولية بواسطة كاشف Folin-Ciocalteu و الفلافونويدات بواسطة محلول ثلاثي كلوريد الالمنيوم (2% $AlCl_3$) ، اذ اظهرت النتائج ان نواة السدر تحتوي على نسبة اعلى من الفينولات مقارنة بالقشرة و ان ثمار السدر غنية بالمركبات الفلافونويد حيث النسبة تتراوح ما بين 19.9 و 58.76 مغ مكافئ كرسيتين /100 غ من المادة الجافة. اظهرت نتائج تعيين القدرة على مقاومة الأكسدة باستعمال طريقتين DPPH و الفوسفوموليبيدات (PPM) أن المستخلصات الفينولية لثمار السدر على قدر من الأهمية مقارنة من مضادات الأكسدة المعيارية

الكلمات المفاتيح: ثمار نبات السدر ، المركبات الفينولية ، الفلافونويدات، اختبار DPPH ، اختبار PPM.

Résumé

Cette étude a été menée pour évaluer les composés lipidiques , phénoliques et l'activité antioxydante des fruits de la plante de Sidr (pulpe et noyau) pour trois régions différentes : Média (climat méditerranéen), Laghouat (climat semi-aride) et Ghardaïa (climat sec). L'étude a prouvé par l'extraction d'huiles que les noyaux sont riches en huile, où le rapport varie entre 6,42 et 9,72 par rapport à les pulpes, où la proportion d'huile est comprise entre 0,18 et 1,25 g/100 g de matière sèche.

L'analyse quantitative des composés phénoliques a été déterminée par le réactif de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par une solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$ 2%), les résultats ont montrés que les noyaux de Sidr contiennent un pourcentage plus élevé de phénols par rapport aux pulpes, et que les fruits de Sidr sont riches en flavonoïdes, où la teneur varie entre 19,9 et 58,76 en mg équivalente en quercétine/100 g de matière sèche

L'étude de l'activité antiaoxidante à l'aide de deux méthodes DPPH et phosphomolybdate (PPM) a montré que les extraits phénoliques des fruits de Sidr ont une certaine importance par rapport aux antioxydants standards.

Mots clés : Fruits Sidr, composés phénoliques, flavonoïdes, test DPPH, test PPM

Abstract

This study was conducted to evaluate the lipidic and phenolic compounds and the antioxidant activity of the fruits of the Sidr plant (the peel and the kernel) for three different regions: Medea (Mediterranean climate), Laghouat (almost -dry climate) and Ghardaia (dry climate).

The study proved through the extraction of oils that the kernel is rich in oil, where the ratio ranges between 6.42 and 9.72 compared to the crust, where the proportion of oil is between 0.18 and 1.25 g / 100 g of dry matter.

The quantitative analysis of phenolic compounds was determined by the Folin-Ciocalteu reagent and flavonoids by a solution of trialuminum chloride ($AlCl_3$ 2%). The results showed that the Sidr kernel contains the higher percentage of phenols compared to the peel and that Sidr fruits are rich in flavonoids, where the percentage ranges between 19.9 and 58.76 mg equivalent of quercetin / 100 g dry matter.

The results of determining the ability to resist oxidation using two methods DPPH and phosphomolybdate (PPM) showed that the phenolics extracts of Sidr fruits are more importance compared to the standards antioxidants.

Keywords: Sidr fruits, phenolic compounds, flavonoids, DPPH test, PPM test.