

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Contribution à l'Optimisation d'extraction
assistée aux ultra-sons des composés
phénoliques et activité antioxydante de
*Ziziphus jujuba L.***

Présenté par :

ABDOUNE Houria & YAHIAOUI Dania

Soutenu le : **13 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M^{me} H. KADJI

MCB

Présidente

M^{me} S. ALIOUI-ZEMOURI

MAB

Encadreuse

M^{me} Y. BENMESSAOUD

MAA

Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Sommaire

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Chapitre I : Revue Bibliographique

I.1- Généralités sur *Ziziphus jujuba*.....03

 I.1.1- Généralités.....03

 I.1.2- Description botanique.....03

 I.1.3- Classification botanique.....04

 I.1.4- Ecologie et environnement.....04

 I.1.5- Composition chimique du fruit de *Ziziphus jujuba*.....05

 I.1.6- Utilisation de *Ziziphus jujuba*.....06

 I.1.6.1- Usage alimentaire.....06

 I.1.6.2- Usage thérapeutique.....07

I.2- Stress oxydants et antioxydant.....07

 I.2.1- Radicaux libre.....07

 I.2.2- Espèces réactive de l'oxygène(ERO).....07

 I.2.3- Origine des espèces réactive de l'oxygène.....08

 I.2.3.1- Sources endogène des espèces réactives de l'oxygène.....08

 I.2.3.2- Source exogène des espèces réactive de l'oxygène.....09

 I.2.4- Stress oxydant.....09

 I.2.5- Antioxydants.....10

 I.2.6- Classification des antioxydants suivant la nature chimique.....10

 I.2.6.1- Antioxydants naturels.....10

I.2.6.2- Antioxydants synthétiques.....	10
I.2.7- Antioxydants de <i>Ziziphus jujuba</i>	11
I.2.7.1- Polyphénols.....	11
I.2.7.2- Caroténoïdes.....	15
I.2.7.3- Vitamines.....	16
I.3- Méthodes d'extractions des polyphénols.....	16
I.3.1- Généralité.....	16
I.3.2- Paramètres influençant l'extraction des polyphénols.....	17
I.3.2.1- Nature du solvant.....	17
I.3.2.2-PH d'extraction.....	17
I.3.2.3- Taille des particules.....	17
I.3.2.4- Température.....	17
I.3.2.5- Agitation.....	17
I.3.2.6- Temps d'extraction.....	17
I.3.3- Technique extractives.....	18
I.3.3.1- Extraction par des solvants organiques (macération).....	18
I.3.3.2- Extraction par Soxhlet.....	19
I.3.3.3- Extraction assistée par ultrason.....	20
I.3.3.4- Extraction assistée par micro-onde.....	21
I.3.4- Avantages et inconvénients des différentes techniques d'extraction.....	22

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1- Echantillonnage.....	23
II.2- Paramètres physico-chimique.....	23
II.2.1- taux d'humidité.....	23
II.2.2- PH.....	24
II.2.3- Acidité titrable.....	24
II.2.4- indice réfractométrique (Brix).....	24
II.2.5- Couleur.....	25

II.2.6- Dosage des sucres totaux.....	25
II.2.7- Dosage des protéines solubles.....	25
II.3- Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques.....	26
II.3.1- optimisation du solvant d'extraction.....	26
II.3.2- Optimisation de volume du solvant d'extraction.....	26
II.3.3- Optimisation de la puissance ultrasonique.....	26
II.3.4- Optimisation du temps d'extraction.....	26
II.4- Dosage des antioxydants.....	26
II.4.1- Dosage des composés phénoliques totaux.....	26
II.4.2- Dosage des caroténoïdes.....	27
II.5- Activité antioxydants.....	27
II.5.1- Pouvoir réducteur.....	27
II.5.2- Activité antiradicalaire(DPPH).....	28
II.6- Analyse statistique.....	29
Chapitre III : Résultats et discussions	
III.1- Paramètre physico-chimiques.....	30
III.1.1- Humidité.....	30
III.1.2- PH.....	31
III.1.3- Acidité titrable.....	31
III.1.4- Brix.....	31
III.1.5- Couleur.....	31
III.1.6- Sucres totaux.....	31
III.1.7- Protéines.....	32
III.2- Caroténoïdes.....	32
III.3- Optimisation d'extraction des composés phénoliques.....	32
III.3.1- Optimisation de volume de solvant d'extraction (étape1).....	33
III.3.1.1- Dosage des polyphénols totaux.....	33
III.3.1.2- Activité antioxydante	34
III.3.1.3- Le choix du solvant pour la deuxième étape.....	36

III.3.2- Optimisation de la puissance ultrasonique (étape 2).....	36
III.3.2.1- Dosage des polyphénols totaux.....	36
III.3.2.2- Activité antioxydants et anti-radicalaire.....	38
III.3.2.3- Choix de la puissance pour la troisième étape.....	39
III.3.3- Optimisation du temps d'extraction (étape3).....	40
III.3.3.1- Dosage des polyphénols totaux.....	40
III.3.3.2- Activité antioxydants et anti-radicalaire.....	41
III.3.3.3- Choix du temps d'extraction.....	43
Conclusion.....	44
Références bibliographiques.....	45
Annexes	

Remerciements

Nous remercions DIEU tout puissant, maître des cieux et de la terre, de nous avoir donné le courage et la patience pour mener à bien ce travail

Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice M^{me} S. ALIOUI ZEMOURI qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.

Nos remerciements sont également exprimés aux membres de jury : M^{me} H. KADJI qui nous fait honneur par sa présence en qualité de présidente de jury et M^{me} Y. BENMESSAOUD qui a accepté d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation

Nous exprimons notre gratitude à madame le professeur H.

LOUAILLECHE directrice du laboratoire de Biochimie Appliquée

Nos remerciements sont également exprimés à M^{elle} F. SADI, M^r M. BACHIR BEY et M^r Y. BENCHIKH pour leurs aides, leurs encouragements et leurs conseils.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci

DEDICACE

J'ai le plaisir de dédier ce modeste et humble travail :

A mon cher père qui a veillé à ma réussite en déployant tous les efforts nécessaires, et qui a été toujours un exemple pour moi.

A ma chère mère qui m'a appris à être femme et confronter les obstacles de la vie et pour tous les sacrifices qu'elle a fait pour mon éducation et pour toute la confiance et l'amour qu'elle m'a toujours accordé.

A mes deux frères : Abdelhalim et Abdaraouf.

A mes sœurs : Ouassifa, Soria, Fouzia son époux Faride et son fils Abdalmenaime et Khalti Fadila

A mon cher futur époux; S. BARKA et à toute sa famille

A ma chère défunte grande mère, qui me manque beaucoup, que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

Une dédicace spéciale à ma binôme Houria et sa famille

A l'ensemble de la promotion 2014-2015 de Master Biochimie

A mes amis(es) qui ont contribué de près et de loin à la réussite de ce travail.

Dania

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste et humble travail :

A mon cher père qui a veillé à ma réussite en déployant tous les efforts nécessaires, et qui a été toujours un exemple pour moi.

A ma chère mère qui m'a appris à être femme et confronter les obstacles de la vie et pour tous les sacrifices qu'elle a fait pour mon éducation et pour toute la confiance et l'amour qu'elle m'a toujours accordé.

A mon cher frères Bilal qui m'aide toujours et m'encouragé.

A mes frères Hachemi, Rabia, Zinedine qui ont été toujours à mes côtés et qui ont m'aidé physiquement et moralement

A Khalti Djamilà que j'aime beaucoup

A tout mes Amis et mes copines de chambre D103 Houa, Dounia, Nassima et Djanet

Une dédicace spéciale à ma binôme Dania et sa famille

A l'ensemble de la promotion 2014-2015, de Master Biochimie.

A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Houria

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

BSA : Sérum Bovin Albumine

DPPH : 1-1'-Diphényl-2-picryl-hydrazyl

E C : Equivalent de β -carotène

EAG : Equivalent Acide Gallique

EAM : Extraction Assistée par Micro-ondes

EAU : Extraction Assistée par Ultrason

ERO : Espèce Réactive de l'oxygène

GPX : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion

SOD: Superoxyde dismutase

pH : Potentiel d'hydrogène

PZ-5 : proanthocyanidine de *Ziziphus jujuba* avec 5 unités de flavanol

TCA : Acide trichloracétique

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

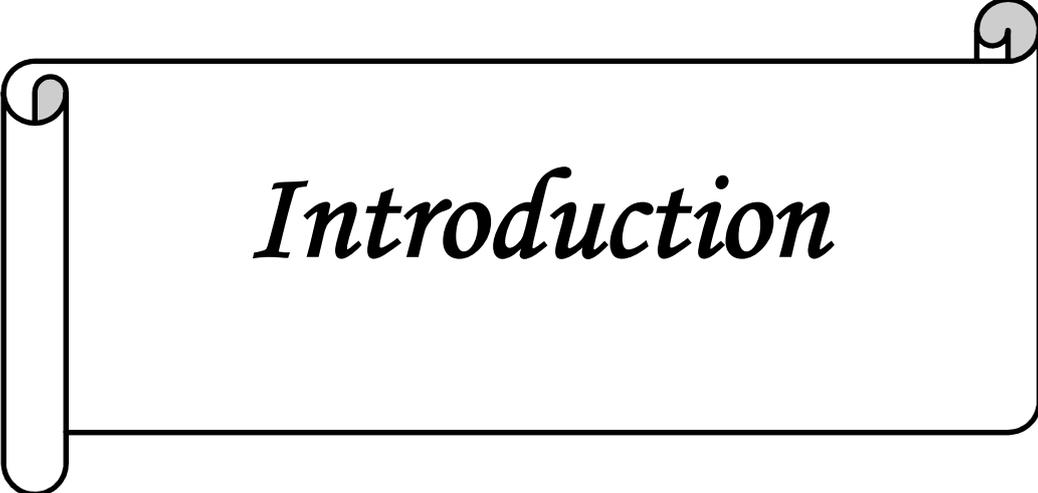
Figures N°	Titres	Pages
01	Coupe transversale du fruit de <i>Ziziphus jujuba</i> .	04
02	Carte de répartition de <i>Ziziphus jujuba</i>	05
03	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défense antioxydants.	11
04	Structure de base des composés phénoliques.	11
05	Structure chimique de l'acide caféique (A) et gallique (B)	13
06	Structure de flavonoïdes isolés à partir de <i>Ziziphus jujuba</i>	13
07	Structure de l'acide ellagique	14
08	Structure d'une molécule de proanthocyanidines PZ-5 de <i>Ziziphus jujuba</i>	15
09	Structure de la β -carotène	15
10	Structure de la vitamine C	16
11	Principe d'extraction par Soxhlet	19
12	génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons	20
13	Principe de l'extraction par micro-onde	21
14	Le fruit de jujube séché	23
15	Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus par différentes concentrations de l'acétone	33
16	Pouvoir réducteur des extraits obtenus par différentes concentrations de l'acétone	34
17	Pourcentage d'inhibition des extraits obtenus par différentes concentrations de l'acétone	35
18	Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques	37
19	Pouvoir réducteur des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques	38

LISTE DES FIGURES

20	Pourcentage d'inhibition des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques	39
21	Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus à différents temps d'extraction	40
22	Pouvoir réducteur des extraits obtenus à différents temps d'extraction	41
23	Activité antiradicalaire des extraits obtenus à différents temps d'extraction	42

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
I	Composition chimique du fruit de <i>Ziziphus jujuba</i>	06
II	Les principales espèces réactives de l'oxygène générées dans les systèmes biologiques	08
III	Avantages et inconvénients des différentes techniques d'extraction.	22
IV	Teneurs en caroténoïdes et paramètre physico-chimique de l'échantillon de jujube analysé	30



Introduction

Introduction

Le métabolisme aérobique chez les mammifères génère des substances appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont impliquées à faibles quantités dans des processus physiologiques. Cependant l'excès de leur production peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule : les lipides, les protéines et les acides nucléiques et par conséquent donné lieu au stress oxydatif qui est impliqué dans un large spectre de maladies (**Ladoh Yemeda *et al.*, 2014**).

Des efforts considérables sont orientés vers l'identification de substances antioxydantes naturelles pouvant lutter contre le stress oxydatif.

Les antioxydants naturels sont l'objet de nombreuses études, car ils sont reconnus pour leur activités biologiques, particulièrement ceux apportés par l'alimentation, ces derniers peuvent réduire les risques liés à plusieurs maladies par un fonctionnement équilibré de notre organisme (oxydant/antioxydant) tout en le protégeant contre divers radicaux libres (**Zeghal et Sahnoun, 2013**).

En Algérie, les plantes ont une grande importance dans la médecine traditionnelle. la flore algérienne est caractérisée par sa diversité méditerranéenne, saharienne, et paléotropical, estimé à plus de 3000 espèce appartenant à plusieurs famille botanique (**Arab *et al.*, 2014**).

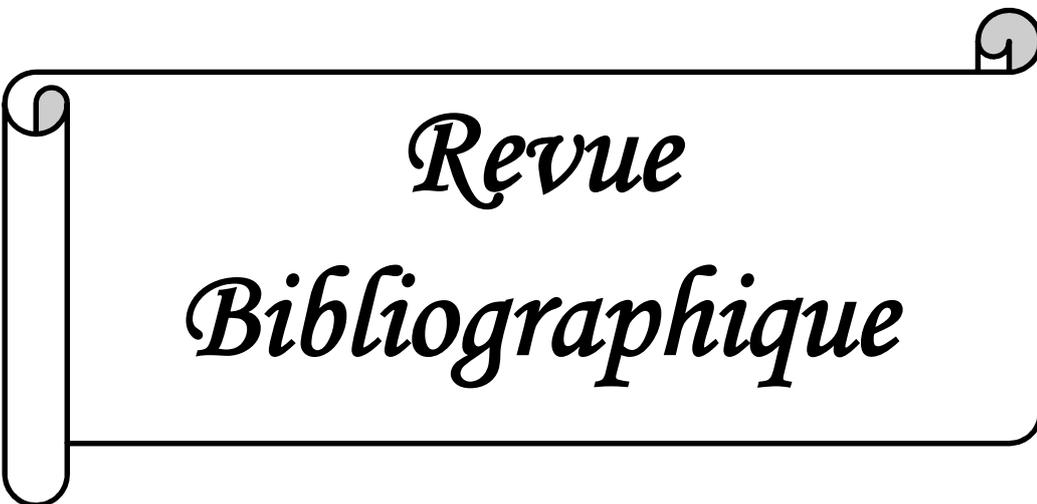
Le jujube est une plante méditerranéenne, c'est une source d'antioxydants naturels tel que les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, proanthocyanidines), vitamines et caroténoïdes, ce qui lui confère la capacité de renforcer le système de défense de l'organisme (**Zhang *et al.*, 2010**). Cependant de nouvelles techniques ont été développées pour l'extraction de ces composés actifs et l'évaluation de leurs activités biologiques.

L'extraction solide-liquide des composés phénoliques est hautement influencée par plusieurs paramètres tel que : le solvant d'extraction et le temps d'extraction. L'extraction par un solvant reste le procédé le plus largement employé. Cependant le transfert de matière qui s'effectue lors de l'extraction par un solvant est entravé et limité par la structure et la paroi cellulaire des végétaux. Pour contourner cette difficulté, plusieurs solutions ont été proposées : des améliorations dans le procédé classique d'extraction par solvant telles que l'utilisation des ultrasons (**Ghitescu *et al.*, 2015**)

La présente étude comprend deux parties principales :

La première partie est une synthèse bibliographique qui traite la description de *Ziziphus jujuba*, des rappels sur l'équilibre stress oxydatif /antioxydants, les antioxydants de *Ziziphus jujuba* et les méthodes d'extraction des polyphénols.

La deuxième partie de ce travail est une étude expérimentale qui a pour objectif la caractérisation de quelques analyses physico-chimiques et l'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols à savoir volume de solvant, la puissance ultrasonique et le temps d'extraction à partir du fruit de jujube par la détermination de la teneur en composés phénolique et l'évaluation de leur activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité anti-radical DPPH).



*Revue
Bibliographique*

I.1- Généralités sur *Ziziphus jujuba*

I.1.1- Généralités

Le jujubier, *Ziziphus jujuba* L., est un arbuste épineux et fruitier, appartient à la famille des Rhamnacées. Il est indigène de la chine et connu comme un fruit dans ce pays au moins 4000 années avant l'ère Chrétien (**Gao et al., 2013**). Cette espèce est cultivée dans des régions tropicales et subtropicales d'Asie et de Méditerranée (France, Maroc, Tunisie et nord d'Algérie).

La classification des espèces est basée principalement sur des caractéristiques morphologiques et leur mode d'utilisation. Le genre *Ziziphus* inclus environ 170 espèces différentes, telles que *jujuba*, *lotus*, *mouritiana*, *mucronata*, *spinosa*, *vulgaris*, *oenoplia* Mill. Les deux espèces qui produisent des fruits comestibles sont *Ziziphus mouritiana* et *Ziziphus jujuba*. L'arbre de Jujube est appelé dans les pays arabes : sidre, Nabk, anneb, jujube et en chine datte chinoise (**Preeti et Shalini, 2014**).

L'espèce *jujuba* s'adapte facilement à la salinité des sols, aux excès d'eau et à la sécheresse, la propagation de cet arbre se fait généralement par la graine, parfois par bouturage de racine ou par la greffe. La fructification commence dès la quatrième année de développement et atteint son plein rendement à l'âge de 15 ans (**Vashishtha et al., 1989**).

I.1.2- Description botanique

Ziziphus jujuba est un petit arbre de 5 à 10 m de longueur et de 0,6m de diamètre avec des branches rigides et épineuses. Il présente une écorce grise et deux épines à la base des rameaux (**Balakrishnan et al., 2012**).

Ces feuilles sont simples, caduques, alternes, courtement pétiolées, ovales et à bords finement dentés. La face supérieure est verte foncée tandis que la face inférieure est verte pale. (**Preeti et Shalini, 2014**).

Les fleurs de *Ziziphus jujuba* sont nombreuses, petites, 5 cm de largeur avec 5 pétales inapercus 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 inflorescences sous forme de cyme axillaire sessile. Ces fleurs fleurissent en juin et juillet. Le jujubier se reproduit très

fréquemment par fécondation croisée, certains arbres libèrent le pollen le matin et d'autres dans l'après-midi, ce qui favorise cette pollinisation (Diallo, 2004).

Le fruit est une drupe ovale comestible comportant un noyau revêtu d'une pulpe blanchâtre de faible épaisseur (1,5 à 3 cm). Lorsqu'il est immature, sa couleur verte avec un goût d'une pomme, il est rouge foncé à maturité avec un goût d'une datte, d'où son nom datte chinoise et noire violacée éventuellement pour le jujube séché. La maturation de ce fruit est après 105 jours de fluorescence (figure1) (Panchal *et al.*, 2010).

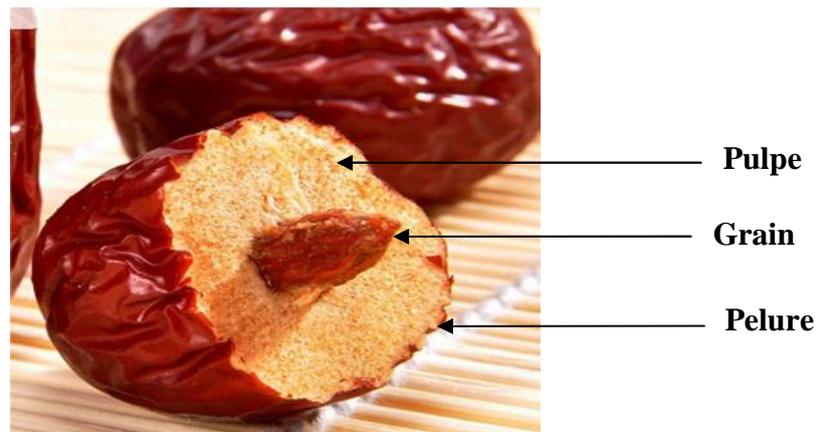


Figure 1 : Coupe transversale du fruit de *Ziziphus jujuba* (Preeti et Shalini, 2014)

I.1.3- Classification botanique

Règne : Planta

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Division : Magnoliopsida

Ordre : Rhamnoles

Famille : Rhamnacées

Genre : *Ziziphus*

Espèce : *jujuba* (Gilman *et al.*, 1994)

I.1.4- Écologie et environnement

La température et le changement climatique sont la cause principale de la diversité morphologique des plantes.

Le jujubier s'adapte au climat chaud et sec avec l'humidité pendant la période de végétation (figure2). Il se trouve dans des zones semi-arides de tous les pays sahéliers d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique orientale et australe et d'une température entre -6 et 55°C. Leur développement se fait dans une variété de sols, avec un pH neutre ou faiblement alcalin (5,5-8,5), tout en évitant les sols argileux (Liu et Zhao, 2009)

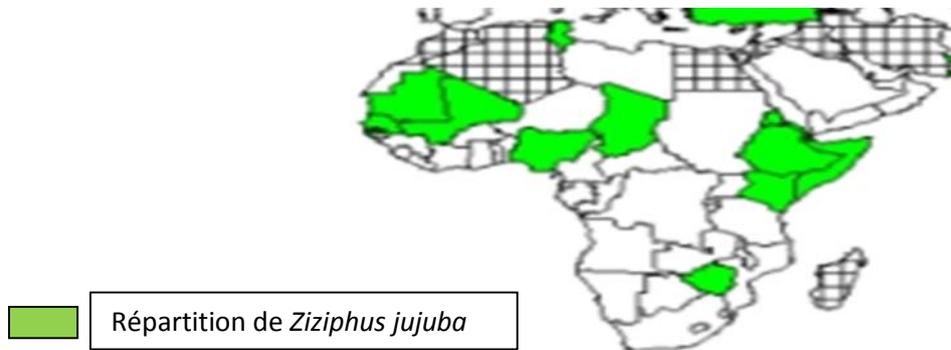


Figure 2 : Carte de répartition de *Ziziphus jujuba*

I.1.5- Composition chimique du fruit de *Ziziphus jujuba*

Les constituants majeurs du fruit de *Ziziphus jujuba* ont un rôle nutritionnel et fonctionnel dû à leurs valeurs nutritives élevées (Tableau I). Elles sont divisées en deux catégories :

- Substances fonctionnelles : vitamine C, fibres comestibles et les minéraux.
- Substances bioactives : stérols, alcaloïde, saponine, sérotonine, polyphénols, flavonoïdes et des triterpènes (Ziiaev *et al.*, 1997).

Tableau I : Composition chimique du fruit de *Ziziphus jujuba*

Le constituant	La teneur	La référence
L'eau	La teneur en eau du fruit de <i>Ziziphus jujuba</i> évolue en fonction de stade de maturation atteignant 42,25 % et 44 % de constituants solubles.	Vidrih et al., 2008
Les sucres	Le fruit de <i>Ziziphus jujuba</i> est très riche en sucre avec une teneur de 9,8 à 14,7 % du poids à l'état frais, il renferme plusieurs types de sucre en particulier fructose, glucose, rhamnose, sorbitol et saccharose.	Li et al., 2007a Zhang et al., 2010
Les vitamines	Les fruits sont très riches en vitamines notamment C, A, B (B1 et B2) et de faibles quantités en vitamine E et P (bioflavonoïde)	Pareek et al., 2009
Les minéraux	Bonne source d'éléments minéraux essentiellement potassium, phosphore, calcium et manganèse.	Chouaibi et al., 2012
Les protéines	La teneur en protéine pour les fruits est de 8 %, mais la grande teneur est représentée par les grains (19,1 %).	Pareek et al., 2009
Les lipides	La teneur en lipides pour les fruits est faible, alors que pour les grains est de 32,9 %.	Chouaibi et al., 2012
Les fibres	La majorité des fibres sont insolubles.	Li et al., 2007a
Les antioxydants	Contient un ensemble d'antioxydants, essentiellement les flavonoïdes : les grains contiennent environ 8 flavonoïdes, les feuilles environ 4 et les fruits 10 flavonoïdes.	San et yildirim, 2010, Choi et al., 2011.

I.1.6- Utilisation de *Ziziphus jujuba*

I.1.6.1-Usage alimentaire

Le principal produit issu du jujubier est le fruit, dont la pulpe est consommée fraîche, sèche, comme additif alimentaire, arôme ou traitée (confiture, miel, pain, farine, gâteaux) (**San et Yildirim, 2010**), comme il peut être transformé en boissons rafraîchissantes. Les feuilles sont consommées comme tisane et l'extrait des fleurs possède un nectar de haute qualité (**Zhao et al., 2008**).

I.1.6.2- Usage thérapeutique

Des études ont montré que les différentes parties de la plante présentent de multiples activités biologiques :

Les graines de *Ziziphus jujuba* engendrent une réaction antigène/anticorps et une inhibition de la libération de l'histamine. Ses deux principes actifs : jujuboside et protojujuboside augmentent les IgG sériques, elles sont des remèdes aussi pour la toux, diarrhée, l'asthme, encéphalopathie, vomissement et ophtalmopathie (**Eddouks et al., 2004**)

Les feuilles sont utilisées comme diurétique, émoullient, expectorant, pour promouvoir la croissance des cheveux, anticancéreux, sédatif, purification de sang. Elles sont reconnues comme étant hypoglycémiantes et provoquent une augmentation du taux de glycogène du foie (**Preeti et Shalini, 2014**). Le principe actif des feuilles (jujuboside a) a un effet synergique avec la phénylalanine sur le système nerveux central.

Les racines, feuilles et écorces ont un effet antibactérien et antifongique. Les flavonoïdes et saponines issues des feuilles et des écorces des racines possèdent une activité anti-inflammatoire et analgésique (**Ghedira et al., 1993**).

Le fruit a un effet anticancéreux, anti-inflammatoire, hépato protectif, antioxydant, anti-insomnie, immunostimulant et neuro-protectif (**Guo et al., 2015**).

I.2- Le stress oxydant et antioxydant

I.2.1- Radicaux libres

Plusieurs fonctions de l'organisme reposent sur une série de réactions chimiques regroupées sous le terme de l'oxydation. Des molécules appelées radicaux libres sont les produits de la dégradation naturelle (**Sean et Lytle, 2001**).

Un radical libre est une espèce chimique, molécule ou atome possédant un ou plusieurs électrons non appariés, ce déséquilibre est comblé soit par l'acceptation d'un électron, soit par le transfert de ce dernier sur une autre molécule (**Fontaine, 2002**).

I.2.2- Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives oxygénées (ERO) incluent les radicaux libres et les espèces non radicalaires qui sont des molécules hautement réactives (Tableaux II). Les ERO sont produites

en permanence dans l'organisme, et sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme, état redox physiologique pour l'expression de gènes) (Chu *et al.*, 2010)

Tableau II : Les principales espèces réactives de l'oxygène générées dans les systèmes biologiques (Bartosz, 2003)

Nom	Symboles
Espèces Radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	HOCl
Oxygène singulet	1O_2
Peroxynitrite	ONOO

I.2.3- Origine des espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène se forment de façon parasitaire dans toutes les réactions biochimiques comportant le transfert d'électron ou la participation de l'oxygène.

I.2.3.2- Source endogène des espèces réactives de l'oxygène

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques et pathologiques.

- La plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries, principalement la formation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) (Roede et Jones, 2010).
- Les peroxysomes sont une source endogène majeure de H_2O_2 via la α -oxydation des acides gras (Gülçin *et al.*, 2006)
- Le cytochrome P450 peut réduire directement O_2 en $O_2^{\cdot -}$ en causant le stress oxydatif, il peut aussi prendre une voie alternative appelée « cycle de redox » dans laquelle un substrat accepte un électron du cytochrome P450 et transféré à l'oxygène générant l'anion superoxyde (Beckamane *et al.*, 1998).

- La régulation des fonctions cellulaires létale telle que la mort cellulaire programmée (apoptose) fait appel aussi à la production des radicaux libres (**Valko et al., 2006**).
- Lors de processus inflammatoires, les neutrophiles activés produisent l'anion superoxyde via l'action de NADPH oxydase lié à la membrane sur l'oxygène moléculaire (**Rodrigo et al. 2011**).
- Durant le métabolisme de l'acide arachidonique, les lipooxygénases génèrent de ERO de plus dans les conditions normales, l'oxyde nitrique synthase convertie l'arginine en citrulline et en monoxyde d'azote (**Lee et al., 2004**).
- Au cours du catabolisme des purines, la xanthine oxydoréductase catalyse l'hydroxylation de l'hypoxanthine en xanthine et par la suite en acide urique en produisant l'anion superoxyde (**Vorbach et al., 2003**)

I.2.3.3- Source exogène des espèces réactives de l'oxygène

Les ERO sont également générées sous l'effet d'oxydants environnementaux. En effet, la pollution (ex : oxydes d'azote) et l'exposition prolongée au soleil induisent la synthèse de radicaux libres ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , 1O_2) et de molécule génératrice de radicaux libres (H_2O_2) par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants.

- l'absorption d'alcool ou de certains médicaments (ex : catécholamines), et le tabagisme sont d'autant des situations qui provoquent une surproduction d'ERO dans notre organisme, susceptibles de dépasser nos défenses antioxydants naturelles (**Tawaha et al., 2007**).

I.2.4- Stress oxydant

Le stress oxydatif est défini par la production excessive des molécules prooxydantes appelées radicaux libres ou une insuffisance des mécanismes antioxydants. Cela provoque un déséquilibre cellulaire de la balance molécule oxydante/antioxydante (**Zeghal et Sahnoun, 2013**). La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale des radicaux libres (**Favier, 2003**).

I.2.5- Antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Esteki et Urooj, 2012).

I.2.6-Classification des antioxydants suivant la nature chimique

I.2.6.1- Les antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants. Elles incluent la bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique et les composés phénoliques (Figure 3) (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

➤ Les antioxydants enzymatiques

- Superoxydedismutase (SOD) : catalyse la dismutation de l'anion superoxideenperoxide d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Landis et Tower, 2005).
- Catalase : transforme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en simple molécule d'eau (Delattre *et al.*, 2005).
- Glutathion peroxydase (GPX) : détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques (Valko *et al.*, 2006)

Antioxydants non enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols (Derbel et Ghedira., 2005)

I.2.6.2- Antioxydants synthétiques

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments : le BHT (3,5-diterdiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA (tertiobutyl-4- hydroxyanisole) et TBFQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) (Picinnelli *et al.*, 2009).

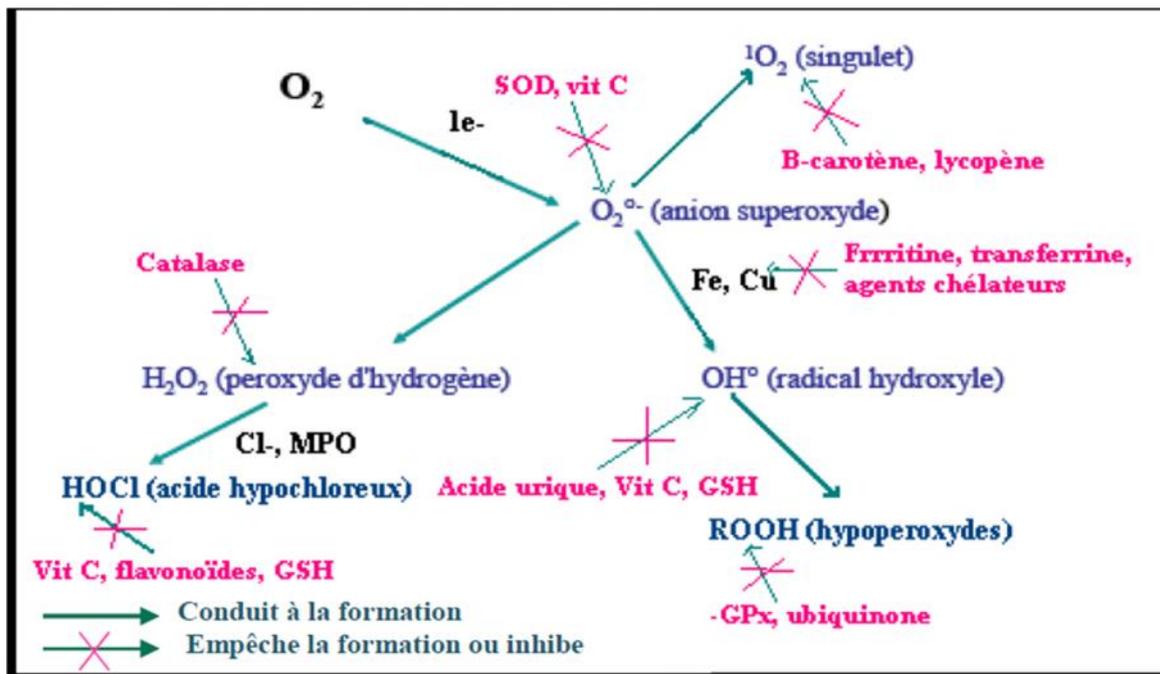


Figure 3 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défense antioxydants (Pincemail et al., 2002).

I.2.7- Antioxydants de *Ziziphus jujuba*

I.2.7.1- Polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires à noyau aromatique phénolique, très connus pour leur rôle antioxydant. Ils sont considérés comme des composés quasi universels qui forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des végétaux. Structuellement, ils se répartissent en plusieurs classes allant de composés présentant un simple noyau phénoliques (acides gallique) à des composés polymériques complexes comme les tanins (Figure 4) (Derbel et Ghedira, 2005)

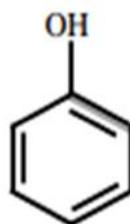


Figure 4 : Structure de base des composés phénoliques (Sarni-manchado et Cheyner, 2006)

❖ Voie de synthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques :

➤ Voie de l'acide shikimique

La voie de l'acide shikimique est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes. Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénolpyruvate sont des précurseurs produites par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphates et la glycolyse respectivement (**Dewick, 1995**).

Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique sont à l'origine de la plupart des molécules phénoliques. La désamination de la phénylalanine grâce à l'action de la phénylalanine ammoniac lyase donne naissance au précurseur direct des phénols (acide cinnamique), qui se transforme en acide coumarique sous l'action de cinnamate-4-hydroxylase (**Knaggs, 2003**).

➤ Voie de l'acétate / malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (**Knaggs, 2003**).

❖ Classification des composés phénoliques

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones. Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

➤ Acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes notamment *Ziziphus jujuba*, la partie la plus riche en acide phénolique est l'écorce de fruit de jujube. Deux sous-groupes peuvent être distingués (Figure 5) (**Zhang et al., 2010**).

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répons sont l'acide gallique et l'acide éllagique.
- Les acides hydroxycinamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide ferrulique, l'acide cinamique et l'acide chlorogénique

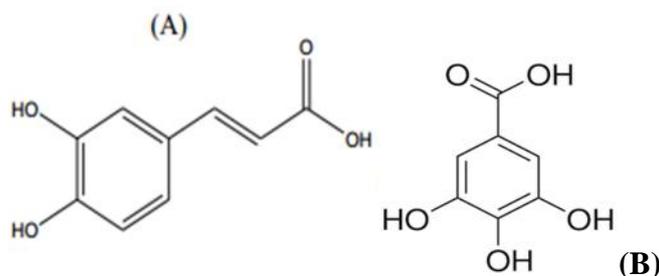


Figure 5 : Structure chimique de l'acide caféique(A) et gallique(B) (Mandal, 2010; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe des polyphénols. Ces molécules possèdent toutes un squelette chimique commun (C₆-C₃-C₆). Ils sont généralement de puissants antioxydants. Selon le degré d'oxygénation et d'insaturation du segment C₃, six classes de flavonoïdes sont définies : flavonols, flavones, isoflavones, flavonones, flavanols et anthocyanes (Manach *et al.*, 2005).

Chez *Ziziphus jujuba*, deux types de flavonoïdes ont été isolés : (1) 8-formyl-3',4'-dihydroxy-6,7-diméthoxyflavone (2) et 8-formyl-4'-hydroxy-3',6,7-triméthoxyflavone. (Figure 6).



Figure 6 : Structure de flavonoïdes isolés à partir de *Ziziphus jujuba* (Li *et al.*, 2013)

➤ Tanins

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire, jouent un rôle de donneur de proton aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (Derbel et Ghedira, 2005).

Deux groupes de tanins différents aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique sont distingués : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

• Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables ou acides tanniques sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation ; l'acide éllagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés (Figure 7) (Sereme *et al.*, 2010)

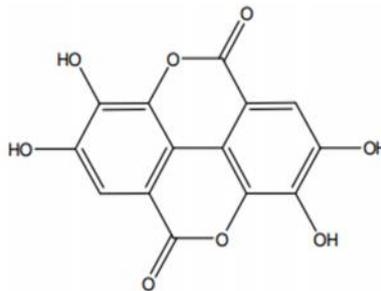


Figure 7 : Structure de l'acide éllagique (King et Young, 1999)

• Tanins condensés

Le fruit de *Ziziphus jujuba* est très riche en proanthocyanidines, composés phénoliques hétérogènes : dimères, oligomères ou polymères du flavanes, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5-deoxy-3-flavanols et flavan-3,4-diols. Les deux groupes majeurs des proanthocyanidines sont les procyanidines et les prodelfinidines (Figure8) (Kou *et al.*, 2015).

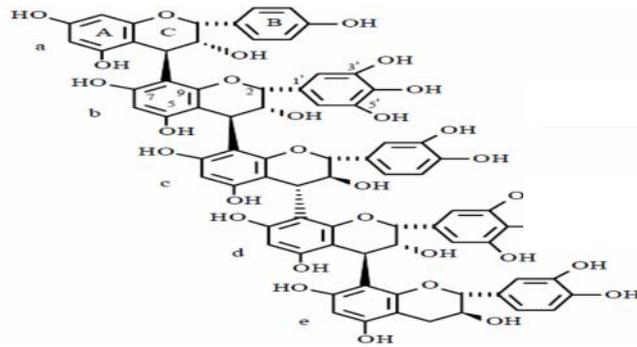


Figure 8 : Structure d'une molécule de proanthocyanidines PZ-5 de *Ziziphus jujuba* (Malik *et al.*, 2002)

➤ **Effet antioxydant des polyphénols**

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante sont (Halliwell, 1994) :

- Le piégeage direct des EOR
- L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR
- La protection des systèmes de défense antioxydants

I.2.7.2- Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments synthétisés par les végétaux notamment *Ziziphus jujuba*. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui donnent aux fruits des couleurs orange, rouge et jaune.

Le -carotène est un précurseur de la vitamine A. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO° , HO° , O_2° , R° par simple addition électrophile et transfert d'électron (Figure 9) (Valko *et al.*, 2006).

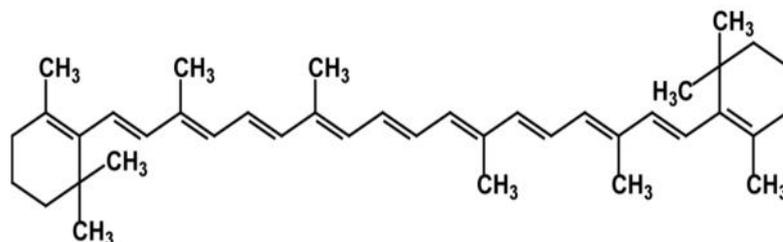


Figure 9 : Structure de la -carotène (Chao Chin *et al.*, 2008)

II.2.7.3- Vitamines

Ce sont des substances non synthétiques dans l'organisme, elles doivent être apportées par les aliments. Les besoins en vitamines sont impératifs en période de croissance (**Evans et Reynhout, 1992**)

❖ Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique empêche l'oxydation des LDL, produite par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène. Les fruits du jujubier sont riches en acide ascorbique (**Wang et al., 2013**). La vitamine C permet également la régénération du radical tocophéroxyle (Vit E), formé au cours de la réaction de protection anti-radicalaire, en tocophérol. Elle réduit la glycosylation et augmente l'activité des enzymes antioxydants (Figure 10) (**Kojo, 2004**)

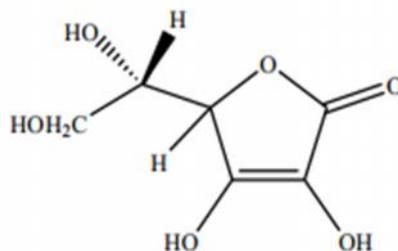


Figure 10 : Structure de la vitamine C (**Potters et al., 2002**)

I.3- Méthodes d'extractions des polyphénols

I.3.1- Généralité

L'extraction des composés phénoliques à partir des végétaux est la première étape dans l'utilisation des phytochimiques (préparation des produits alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques). C'est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préserve leurs propriétés biologiques. Les composés phénoliques peuvent être extraits à partir des échantillons de plante frais, congelés ou secs (**Mahmoudi et al., 2013**).

La technique d'extraction représente un facteur primordial qui influence la qualité de l'extrait et le rendement d'extraction. Pour une technique donnée, plusieurs « méthodes »

peuvent être développées. Ces méthodes vont déterminer les paramètres optimaux d'extraction des molécules végétales.

I.3.2- Paramètres influençant l'extraction des polyphénols

I.3.2.1- Nature du solvant

La nature du solvant est très importante pour pouvoir extraire les molécules d'intérêt et, si possible, de façon sélective. Le solvant doit avoir une affinité importante pour les molécules ciblées et posséder une grande capacité de dissolution. Le méthanol, l'éthanol, le propanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, ainsi que leurs mélanges avec l'eau sont largement utilisés pour l'extraction des composés phénoliques. Les mélanges extraient souvent mieux les substances ciblées que les solvants purs (**Penchev *et al.*, 2010**).

I.3.2.2- pH d'extraction

La polarité de beaucoup de composés végétaux varie avec le pH du solvant. Par conséquent, leur solubilité dépend aussi de l'acidité/basicité du solvant. L'extraction à différents pH peut aussi permettre d'obtenir des extraits riches en groupes de substances variées (**Lehtinen et Laakso, 1998**).

I.3.2.3- Taille des particules

La source est souvent préalablement découpée ou broyée pour faciliter l'extraction. La réduction de la taille des particules augmente la surface d'échange et ainsi la vitesse d'extraction (**Bucic-Kojic *et al.*, 2007**).

I.3.2.4- Température

La température est le paramètre le plus influant sur la modification des polyphénols (**Larrauri *et al.*, 1997**). L'augmentation de la température accroît la solubilité et la diffusivité dans la solution et réduit sa viscosité. La chaleur facilite l'extraction aussi, car elle augmente la perméabilité des parois cellulaires.

I.3.2.5- Agitation

L'agitation mécanique des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu. Si l'agitation est très intense et/ou maintenue

durant une longue période, elle peut favoriser des chocs entre les différentes particules et permet ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu (Dibert et Cross, 1989).

I.3.2.6- Temps d'extraction

Le temps de contact entre les deux phases est aussi l'un des paramètres les plus importants à maîtriser. Ce paramètre est étroitement lié à la cinétique de l'extraction. La connaissance de la cinétique permettra d'arrêter l'extraction lorsque le rendement souhaité est atteint (Mandal, 2007)

I.3.3- Techniques extractives

Le procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilités des composés d'un mélange dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide.

I.3.3.1- L'extraction par des solvants organiques (macération)

L'extraction par solvant est la procédure la plus utilisée généralement pour préparer des extraits de la matière végétale due à leur facilité d'utilisation, efficacité et une large applicabilité. Le choix du solvant est le premier facteur qui permet d'agir sur le rendement et la sélectivité d'une extraction solide/liquide (Xu *et al.*, 2007).

Afin de limiter les risques d'oxydation des composés phénoliques, les processus d'extraction et d'évaporation sont réalisés à l'abri de la lumière. De plus, les polyphénols étant sensibles à des températures excessives, les extraits sont maintenus à des températures inférieures à 40°C durant les phases d'extraction et d'évaporation (Lahthinen et Laakso, 1998)

❖ Extraction par éthanol

L'éthanol est souvent préconisé pour l'extraction de composés bioactifs dans l'industrie agroalimentaire du fait de sa moindre toxicité. De plus, l'augmentation de la concentration d'éthanol d'un mélange éthanol/eau réduit le constant diélectrique de ce mélange et augmente la solvation des molécules de polarité inférieure à l'eau, comme c'est le cas pour les polyphénols (Cacace et Mazza, 2003).

❖ Extraction par méthanol

Le méthanol est généralement avéré plus efficace dans l'extraction des polyphénols de faible poids moléculaire. Le mélange méthanol/eau conduit à de bons rendements d'extraction des dérivés hydroxycinamiques, flavones, flavanols et catéchine de fruit (Guyot *et al.*, 2001).

❖ Extraction par acétone

La macération du matériel végétal broyé dans le mélange acétone/eau est pour empêcher l'action de polyphénoloxydases qui dégradent les composés phénoliques (Naczki et Shahidi, 2006)

I.3.3.2- Extraction par Soxhlet

L'extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide-liquide avec une grande efficacité. L'appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.

Principe

L'appareil de Soxhlet permet une extraction continue par macération avec un renouvellement régulier de solvant jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (Figure 11). Le nombre de cycles pour cette durée d'extraction est variable selon le solvant utilisé : plus un solvant est volatil, plus le cycle est court (Gutierrez *et al.*, 1999).

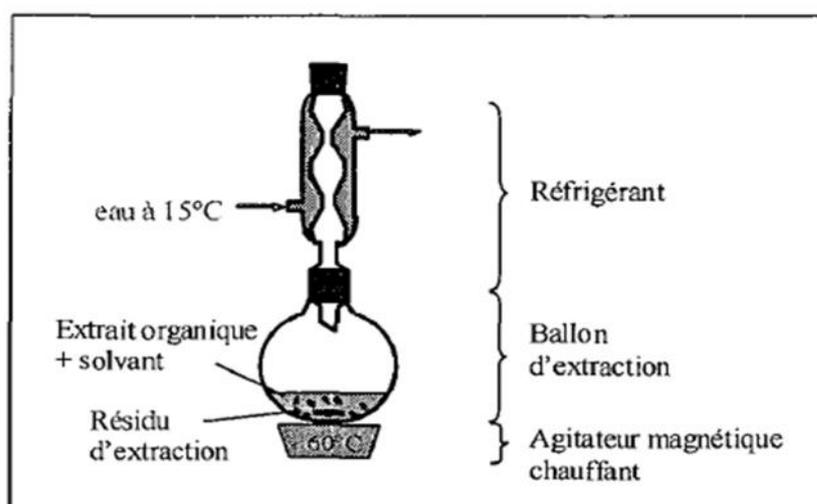


Figure 11 : Principe d'extraction par Soxhlet

I.3.3.3- Extraction assistée par ultrason

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. Les ultrasons dans l'extraction peuvent également perturber les parois cellulaires, facilitant la libération de leur contenu. Par conséquent, l'efficacité de rupture des cellules et du transfert de masse sont cités en tant que deux facteurs principaux menant aux bonnes performances de l'extraction avec la puissance ultrasonique (**Ghitescu et al., 2015**).

Principe

Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, le milieu de propagation de l'onde ultrasonore est soumis à une succession de compression provoquant la formation de bulles, ces bulles vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression. La répétition de ces cycles va conduire à l'impulsion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie (Figure 12). Les mécanismes d'extraction par ultrason impliquent deux phénomènes physiques :

- ✓ Les molécules peuvent parfois traverser la paroi cellulaire par simple diffusion
- ✓ Le contenu des cellules peut être lessivé après destruction des parois cellulaires, afin de récupérer l'ensemble des composés phénoliques (**Vinatoru, 2001**).

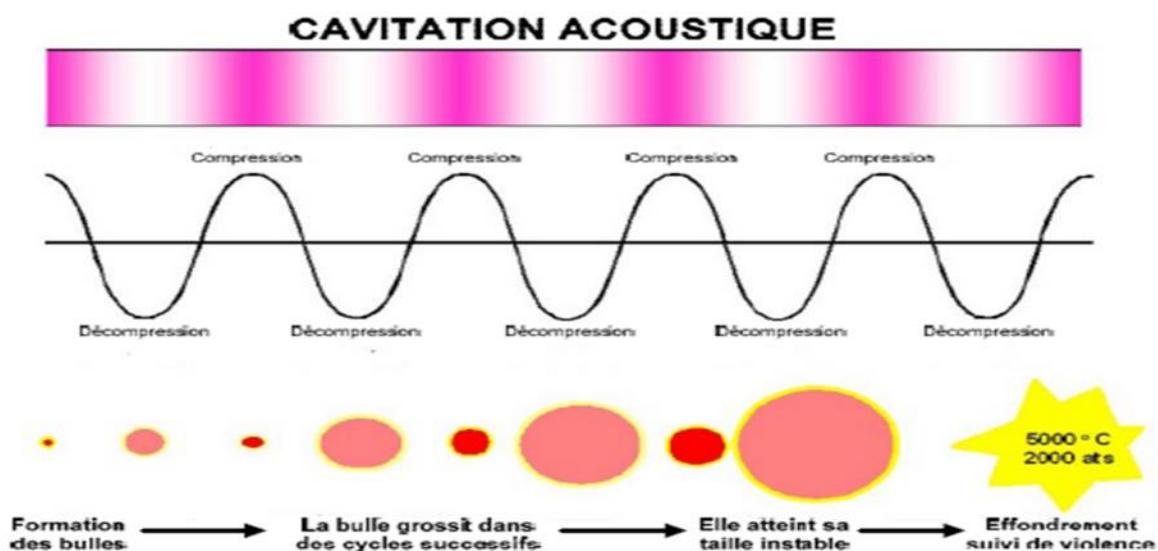


Figure 12 : génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons (**Pétrier et al., 2008**)

I.3.3.4- Extraction assistée par micro-onde

L'extraction assistée par Micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des micro-ondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction (**Kaufmann, Christen *et al.*, 2001**)

Principe

L'extraction assistée par micro-onde consiste à traiter sous micro-onde un solide, sec ou humide, en contact avec un solvant partiellement ou totalement transparent à la micro-onde (Figure 13). Ce procédé a pour vocation d'être une méthode d'extraction utilisable pour un grand nombre de matrices solides telles que les végétaux (**Rostagno *et al.*, 2007**)



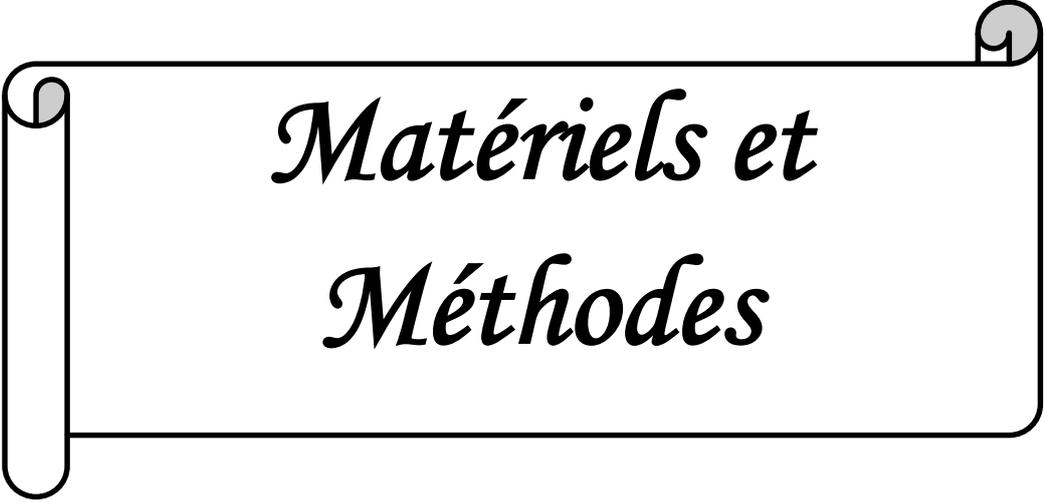
Figure13 : Principe de l'extraction par micro- onde

I.3.4- Avantages et inconvénients des différentes techniques d'extraction

Toutes les techniques biochimiques possèdent des avantages et des inconvénients (Tableau III).

Tableau III : Avantages et inconvénients des différentes techniques d'extraction.

	Avantages	inconvénients
Extraction par Soxhlet	-l'extraction est effectuée avec un solvant chaud favorisant la dissolution des composés recherchés. -aucune filtration n'est nécessaire après l'extraction (Luque de Castro et Garcia-Nyoso, 1998)	-La durée d'extraction est longue. -Il consomme une grande quantité de solvant -la température est très élevée, ce qui risque la thermodestruction (Penchev, 2010)
Extraction par des solvants	Elle évite les échauffements locaux et consomme une petite quantité de solvant (Reighar et olesik, 2006).	-les températures opératoires élevées peuvent mener à une dégradation des solutés thermolabiles (Wang et Waller, 2006).
Extraction assistée par ultrason	-Amélioration du rendement de l'extraction (Goula, 2013). -consomme moins d'énergie que les méthodes classiques -elle permet l'extraction de composés thermosensibles. -Augmente la perméabilité des parois cellulaires et produit des cavitations (Handa, 2008).	-Cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus d'extraction (Penchev, 2010). -l'effet délétère de l'énergie ultrason sur les constituants actifs des plantes médicinales par la formation des radicaux libres et par conséquent des changements indésirables dans les molécules médicamenteuses (Handa, 2008).
Extraction assisté par micro-onde	la rapidité : les temps d'extraction sont souvent de quelque minute (Wang et Waller., 2006). - la réduction de consommation du solvant (Grigonis et al., 2005).	- La température élevée de cette technique (100-150°C) pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction des antioxydants (Reighar et olesik, 2006).



*Matériels et
Méthodes*

II.1-Echantillonnage

Les fruits de jujube *Ziziphus jujuba* étudiés proviennent de la région de Kherrata située à la wilaya de Bejaia. En septembre 2014, les fruits ont été récoltés au stade final de leur maturité par la promotrice Alioui-Zemouri. Pour éviter les réactions de dégradation et de développement des moisissures, les échantillons de jujube ont été placés dans des boîtes fermées et stockés dans un congélateur jusqu'à utilisation. Les échantillons de jujube à étudier ont été dénoyautés, coupés en petits morceaux et réduits en pâte à l'aide d'un broyeur.



Figure 14 : Le fruit de jujube séché (Siedentopp, 2008)

II.2- Paramètres physico-chimiques

II.2.1-Taux d'humidité

Afin d'exprimer les teneurs en composés phénoliques par rapport au poids sec, la teneur en eau du fruit de jujube est déterminée. Le principe consiste à prendre une masse de 2g du broyat de la pulpe de jujube pesée dans une boîte de Pétri et l'introduire dans l'étuve à une température de 105°C pendant 24 heures (Gao *et al.*, 2011).

Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient de placer l'échantillon dans un dessiccateur contenant la résine. La teneur en eau est déterminée :

$$\text{Humidité (\%)} = (P_1 - P_2) * 100 / (P_1 - P_3)$$

P₁ : Poids initial de l'échantillon et de la boîte de Pétri.

P₂ : Poids final de l'échantillon et de la boîte de Pétri.

P₃ : Poids de la boîte de Pétri vide.

II.2.2-pH

Le pH du broyat de jujube a été déterminé à l'aide d'un pH mètre qu'il faut tout d'abord étalonner par une solution de pH =7 contenant du phosphate de potassium et du phosphate de sodium et une solution tampon à pH=4 contenant du potassium, de l'hydrogène et des phtalates. La solution à testé a été préparée selon la méthode suivante : 1g du broyat est ajusté par l'eau distillée jusqu'à 20g puis agitation pendant 10 mn. Enfin, la sonde est introduite dans la solution pour mesurer la valeur du pH après stabilisation de l'afficheur.

II.2.3-Acidité titrable

L'acidité est déterminée en utilisant un pH-mètre. La solution utilisée pour la détermination du pH a été récupérée et subit une sonication pendant 3 mn, puis titrée par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1 %) jusqu'au pH de 8,1.

Les résultats sont exprimés en concentration d'acide citrique en g/100g selon la méthode de (Wang *et al.*, 2013).

$$C_{\text{acide citrique}} = V(\text{NaOH}) * \frac{C(\text{NaOH}) * 0.069}{C_{\text{vacide}} * 100}$$

V(NaOH) : Volume du NaOH

C(NaOH) : Concentration du NaOH

Vacide : Volume de produit analysé

0,069: Facteur spécifique de l'acide citrique

II.2.4- Indice refractometrique (brix)

La méthode réfractométrique permet d'obtenir le pourcentage de la matière sèche soluble en degré Brix. Il consiste à déposer une goutte de broyat sur le prisme du réfractomètre, puis tirer la valeur qui sépare entre la zone claire et la zone sombre (Wang *et al.*, 2013).

II.2.5-Couleur

La détermination de la couleur du broyat consiste à diluer 1g du broyat dans 5 ml d'eau distillée, puis une agitation pendant 5 mn et filtration à l'aide d'un papier filtre. L'absorbance est mesurée à 420 nm par balayage.

II.2.6-Dosage des sucres totaux

Les sucres simples, oligosaccharides, polysaccharides et leurs dérivées réagissent avec le phénol (5%) et l'acide sulfurique concentré en donnant une coloration jaune-orange.

La méthode utilisée est celle de (**Xi et al., 2010**), 0,01g du broyat est mélangé avec 50ml de l'eau distillée, puis une agitation. 500 µl de phénol (5%) et 2500 µl de l'acide sulfurique sont ajoutés à 100 µl de l'extrait. Le mélange est ensuite incubé à 95°C pendant 5mn. L'absorbance est mesurée à 480 nm. Les résultats sont exprimés en mg de glucose par 100g du broyat de jujube en se référant à la courbe d'étalonnage (Figure A Annexe 1) obtenue dans les mêmes conditions en utilisant le glucose.

II.2.7-Dosage des protéines solubles

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de **Bradford (1976)**. Cette méthode est basée sur le changement de la couleur du bleu de Coomassie après sa liaison avec les acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines.

L'extrait est préparé par 0,4 g du broyat de jujube mélangé avec 10 ml de l'éthanol 70%. Après agitation pendant 24h à température ambiante, le mélange est centrifugé à 5000 tours pendant 15 mn et le surnageant est récupéré. Ensuite, 2,5 ml du réactif de Bradford sont ajoutés à 200 µl de l'extrait. Après incubation de 5mn à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 595 nm.

Les résultats sont exprimés en mg de Sérum Albumine Bovine (BSA) par 100 g du broyat de jujube en se référant à une courbe d'étalonnage (Figure B Annexe1).

II.3- Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques

Il existe plusieurs paramètres qui influencent l'extraction des composés phénoliques: la méthode d'extraction, le choix du solvant, le volume du solvant, la dimension des particules, le temps d'extraction, l'acidité, la température...etc.

Une macération aqueuse est effectuée sur des fruits sec (jujube, figue, datte et caroube) avec des solvants (acétone, éthanol, méthanol et l'eau distillé)

II.3.1-Optimisation du volume de solvant d'extraction

Selon **Bachirbey *et al.*, (2013)** et **Benchick et louaileche, (2014)**, l'acétone est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénolique à partir des fruits sec suivante : figue, caroube, datte, jujube.

Une macération aqueuse est effectuée sur 0,6 g du broyat de fruit de jujube avec 20 ml d'acétone (20%, 40%, 60%, 80% et 100%). Après agitation pendant 10 mn à température ambiante, les mélanges sont centrifugés à 3000 tours pendant 10 mn afin d'éliminer toutes les particules solides. Les surnageant récupérés et filtrés constituent les extraits.

II.3.2-Optimisation de la puissance ultrasonique

La méthode consiste à peser 0,6 g du broyat de jujube et le mélanger avec 20 ml de solvant. Ces mélanges subissent une sonication à différentes puissances (20%, 40%, 60%, 80%, 100%) pendant 10 mn suivi d'une centrifugation à 3000 tr pendant 10 mn. les extraits obtenus sont filtrés.

II.3.3-Optimisation du temps d'extraction

0.6 g du broyat de jujube est mélangé avec 20ml de solvant. Le mélange a subit une sonication par une variété du temps (5mn, 10mn, 15mn, 20mn, 25mn, 30mn, 40mn, 45mn). Les mélanges obtenus sont introduits dans une centrifugeuse à 3000 tours pendant 10 mn. Les surnageant récupérés et filtrés constituent les extraits.

II.4-Dosage des antioxydants

II.4.1- Dosage des composés phénoliques totaux

Cette méthode utilise le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un mélange de couleur jaune constitué de deux acides, phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). En milieu basique (carbonate de sodium), le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit lors de l'oxydation des composés phénoliques, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Marian et Freidoon, 2004).

La teneur en composés phénoliques est déterminée selon le protocole de (Kumar *et al.*, 2011). 100 μ l d'extrait est dilué avec 200 μ l de l'eau distillée puis, 1000 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) et 750 μ l de carbonate de sodium Na_2CO_3 (6%) sont ajoutés respectivement. Après, le mélange est incubé 90 mn à l'obscurité et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des acides phénoliques présents dans l'échantillon. Les absorbances sont mesurées à 730 nm.

La concentration en composés phénoliques de l'extrait, exprimée en mg équivalent d'acide gallique (E.A.G)/100g du broyat de jujube, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (Figure C Annexe 1) obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique.

II.4.2-Dosage des caroténoïdes

La teneur en caroténoïde est déterminée selon la méthode de Lee et Castle, (2001). L'extraction des caroténoïdes consiste à ajouter 20 ml du mélange (hexane : acétone : éthanol) (2 : 1 : 1) à 1g du broyat de jujube. Après agitation pendant 30 mn à température ambiante, le mélange est centrifugé à 4000 tours pendant 15 mn, la phase supérieure (phase hexanique) est récupérée. L'absorbance est mesurée à 430 nm.

Les concentrations en caroténoïdes sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage (Figure D Annexe 1) réalisée dans les mêmes conditions en utilisant le - carotène comme standard, les résultats s'expriment en milligramme équivalent de - carotène(E. .C) par 100g du broyat de jujube.

II.5-Activité antioxydants

II.5.1-Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{+2}) en présence d'un antioxydant qui a le pouvoir de céder des électrons (**Chew et al., 2009**)

Le pouvoir réducteur est estimé selon la méthode de **Gao et al., 2012**. 200 μl d'extrait est mélangé avec 500 μl de tampon phosphate (0,2M, 6,6) et 500 μl de ferricyanure de potassium (1%). Le mélange est incubé à 50°C dans un bain marie pendant 20 mn, ensuite l'ajout de 500 μl d'acide trichloracétique (TCA 10%). Après, récupération de 500 μl de mélange, 500 μl de l'eau distillé et 100 μl de chlorure de fer (FeCl_3 0,1%) sont ajoutés, le mélange est incubé à l'obscurité pendant 10 mn. Les absorbances sont mesurées à 700 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (E.A.G)/100g du broyat de jujube en se référant à la courbe d'étalonnage (Figure F Annexe 1) obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique.

II.5.2- Activite anti-radicalaire (DPPH)

Le diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) est un radical libre stable soluble dans le méthanol. Dans ce test les antioxydants réduisent le (DPPH) ayant une couleur violette en un composé jaune, l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons et électrons (**Kim et al., 2013**).

L'activité antiradicalaire est mesurée selon la méthode de **He et al., (2011)**. 2 ml de DPPH et 100 μl de l'extrait sont mélangés puis incubés à l'obscurité pendant 30 mn. Les absorbances sont mesurées à 517 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition \%} = (\text{Abs}_{\text{témoin}} - \text{Abs}_{\text{extrait}} / \text{Abs}_{\text{témoin}}) * 100$$

- **Abs_{Extrait}** : Absorbance de l'extrait
- **Abs_{témoin}** : Absorbance du témoin

II.6-Analyse statistique

Les données représentent la moyenne de trois essais. La comparaison des résultats est réalisée par l'analyse de la variance, ANOVA (STATISTICA 5.5) et le degré de signification des données est pris à la probabilité $P = 0,05$. Tous les résultats ont été exprimés en moyennes \pm écartypes à l'aide de Microsoft Excel 2010.



*Résultats et
Discussions*

III.1- Paramètres physico-chimiques

Les résultats de l'analyse physico-chimique du broyat de fruit de *Ziziphus jujuba* sont présentés dans le tableau N° IV.

Tableau IV : Teneurs en caroténoïdes et paramètre physico-chimique de l'échantillon de jujube analysé

Paramètres	Teneurs
Humidité de fruit	31,37%
Humidité du broyat	49,96%
PH	4,49 ± 0
Acidité titrable	0,79± 0 g/100g
Brix	51,5 ± 0,71%
Couleur (abs)	2,26 ± 0,03nm
Sucre	12522,97 ± 296,03 mg E glucose/100g
Protéine	88,70± 5,92 mg BSA/100g
Caroténoïde	1,97± 0,15 mg E C/100g

III.1.1- Humidité

L'appréciation de la teneur en matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenu dans l'échantillon à analyser. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation, l'eau représente une source de dégradation des polyphénols par le phénomène d'oxydation.

L'analyse du taux d'humidité au niveau de fruit de *Ziziphus jujuba* montre une proportion de 31,37% ± 0.87 et pour le broyat une proportion de 49,38% ± 0.5 (Tableau IV). Ces résultats sont supérieurs de ceux rapportés par **Li et al., (2007a)** qui ont obtenus des taux d'humidité de fruit de 22,52% ± 1.43 et ceux de **Kim et al., (2013)** qui ont rapporté une teneur en eau de fruit de jujube de 36,56%. Par contre, les résultats de la présente étude sont inférieurs de ceux rapportés par **Wang et al., (2013)**, qui ont obtenu une teneur de 65,4%±0.6.

La variation de la teneur en eau peut être attribuée au facteur interne de fruit, étape de maturation et au facteur externe, température et l'ensoleillement.

III.1.2- pH

La mesure du pH est l'un des paramètres les plus importants dans le contrôle de la qualité de toute denrée alimentaire.

La mesure du pH de l'échantillon étudié révèle un pH acide avec une valeur de $4,49 \pm 0$ (Tableau IV). Ce résultat est très proche de celui rapporté par **Galindo et al., (2015)** qui ont obtenu une valeur de 4,39, et celui de **Wang et al., (2012)** qui ont rapporté une valeur de $4,63 \pm 0,02$. cependant ce résultat est inférieur à celui rapporté par **Gao et al., (2011)** où la valeur du pH est 6,1. la différence de pH est due au climat et au type de sol (la richesse de sol en minéraux)

III.1.3- Acidité titrable

L'acidité est un paramètre de qualité qui est liée à la stabilité des composés bioactifs présents dans l'aliment.

La valeur de l'acidité titrable du broyat de jujube étudié est de $0,79 \pm 0,04$ (Tableau IV), elle est supérieure à celle rapportée par **Gao et al., (2011)** qui ont obtenu une valeur de $0,37 \pm 0,04$ et celles de **Wang et al., (2013)** qui ont obtenu $0,46 \pm 0,01$.

III.1.4- Brix (indice réfractométrique)

Le pourcent de brix du broyat de jujube est de 51,5% (Tableau IV). D'après **Wang et al., (2013)**, le brix est de $27,9 \pm 0,1\%$, ce résultat se diffère du pourcentage obtenu dans la présente étude. Cela peut être dû à l'âge de la plante et leur charges en fruits.

III.1.5- Couleur

La valeur de la couleur du broyat de jujube est $2,25 \pm 0,028$ (Tableau IV). Cette valeur est proche de celle de **Kim et al., (2013)** qui ont obtenu une valeur de $2,45 \pm 0,15$.

III.1.6- Sucres totaux

Le fruit de *Ziziphus jujuba* est très riche en sucre totaux (datte chinoise) avec une teneur de $12,52 \pm 0,29$ g de glucose/100g du broyat (Tableau IV). Ce résultat est très proche de celui rapporté par **Gao et al., (2011)** qui a obtenu une teneur de $12,9 \pm 0,6$ g/100g et inférieur de celui rapporté par **Li et al., (2007)** qui est de $81,62 \pm 3,12$ g/100g. Ces variations

de la teneur en sucres totaux pourraient être dues au stade de maturation du fruit et l'état de conservation de ce fruit (sèche ou frais), le fruit sec est très riche en sucre. Ce dernier constitue une source non négligeable de sucres qui fournissent des calories, Ceci a poussé à penser de transformer ces fruits en plusieurs produits alimentaires notamment les confitures.

III.1.7- Protéines

Dans la présente étude, le fruit de jujube a une teneur en protéine qui est de $88,70 \pm 5,92$ mg BSA/100g du broyat (Tableau IV), elle est supérieure à celle rapportée par **Li et al., (2007b)** qui a obtenu une teneur de $5,01 \pm 0,05$ %. Cette différence est due au facteur génétique de la plante et au facteur environnementaux: l'ensoleillement, l'humidité, caractéristiques du sol (**Alexieva et al., 2001**).

III.2- Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des molécules lipophiles. Leur extraction exige l'utilisation de deux phases: une phase apolaire pour solubiliser les caroténoïdes et une phase polaire pour éliminer les molécules hydrophiles dont les composés phénoliques.

Notre étude révèle une teneur en caroténoïdes de $1,97 \pm 0,15$ mg E C/100g (Tableau IV), elle est supérieure à celle obtenue par **San et Yildirim, (2010)** qui est de $0,26 \pm 0,1$ mg/100g. La teneur en caroténoïde qui est issue du métabolisme secondaire de la plante est due aux différents facteurs : états de maturation, type de sol, les UV qui augmentent l'accumulation des produits secondaires de la plante (caroténoïde et proanthocyanidines) (**Alexieva et al., 2001**).

III.3-Optimisation d'extraction des composés phénoliques

L'extraction des biomolécules actives est influencée par plusieurs facteurs : type de solvant, rapport solide/ liquide, intensité des fréquences ultrasoniques, temps d'extraction température...etc., donc il est très intéressant de passer par l'étape d'optimisation afin d'obtenir les meilleurs taux de composés phénoliques avant de passer à l'étude de différentes activités biologiques.

III.3.1- Optimisation de volume du solvant d'extraction (étape1)

III.3.1.1- Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques du broyat de jujube est significativement affectée par le type du solvant ($p < 0,05$). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de l'acétone à différents concentrations (20%, 40%, 60%, 80% et 100%) sont présentés dans la figure N°14.

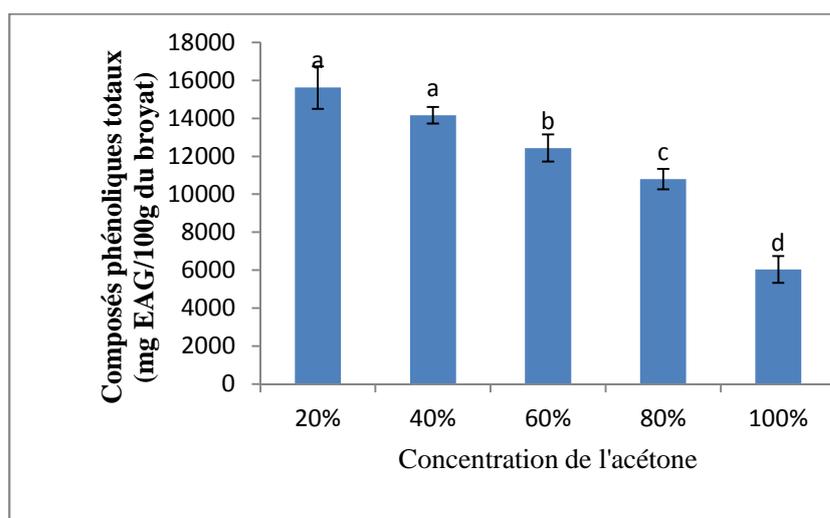


Figure15 : Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus par différentes concentrations de l'acétone.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts-types.

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits du broyat de jujube varient de 6035,38 mg EAG/100g du broyat (Acétone 100%) et 15620,03 mg EAG/100g (Acétone 20%).

L'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques à partir du broyat de jujube présente l'ordre décroissant suivant :

Acétone 20% (15620,03 mg EAG/100g du broyat) = Acétone 40% (14161,04 mg EAG/100g du broyat) > Acétone 60% (12436,64 mg EAG/100g du broyat) > Acétone 80% (10803,71 mg EAG/100g du broyat) > Acétone 100% (6035,38 mg EAG/100g du broyat).

La teneur en composé phénolique obtenue par l'acétone pure est faible par rapport à ceux obtenus par la dilution de l'acétone, ce qui traduit la faible solubilité des composés phénoliques de jujube dans les solvants purs (**Benchikh et Louailèche, 2014**)

L'acétone a l'avantage de précipiter les protéines et d'extraire faiblement les sucres. Les mélanges acétone/eau sont de bons solvants pour l'extraction des antioxydants polaires ; il semble qu'ils permettent la dissolution des complexes composés phénoliques-protéines (**Bachirbey et al., 2013**).

Le taux d'extraction des composés phénoliques ne dépend pas seulement de la polarité des solvants mais également de la polarité des composés phénoliques.

D'après **Chaalal et al., (2012)**, l'acétone est le solvant adéquat pour extraire les composés phénoliques à partir de figue de Barbarie et selon **Benchikh et Louailèche, (2014a)**, l'acétone 70% est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques à partir de caroube.

III.3.1.2- Activité antioxydante

➤ Pouvoir réducteur

La capacité réductrice d'un composé est considérée comme étant un indicateur de son activité antioxydants (**Yen et Chen, 1995**)

Le pouvoir réducteur des extraits de l'acétone à différentes concentrations (20%, 40%, 60%, 80% et 100%) est présenté dans la figure N° 16.

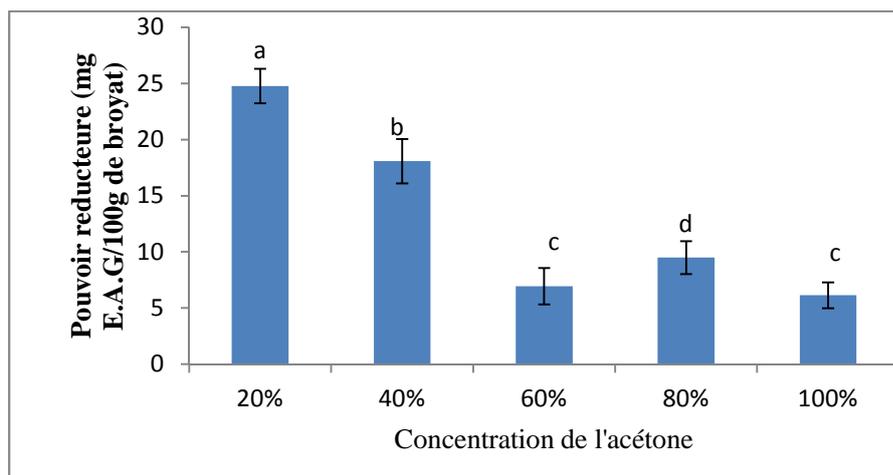


Figure 16 : Pouvoir réducteur des extraits obtenus par différentes concentration de l'acétone.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts-types.

Les résultats du pouvoir réducteur présentent l'ordre décroissant suivant :

Acétone 20% (24,76 mg EAG/100g du broyat) > l'acétone 40%(18,04 mg EAG/100g du broyat) > l'acétone 80% (9,48 mg EAG/100g du broyat) > l'acétone 60% (6,93 mg EAG/100g du broyat) = l'acétone 100% (6,13 mg EAG/100g du broyat).

➤ Activité antiradicalaire (DPPH)

La méthode a été exploitée dans cette étude afin de déterminer les pourcentages de neutralisation du radical DPPH par les différents extraits, l'utilisation de cette méthode est due sa simplicité, stabilité et reproductibilité (Benchikh *et al.*, 2014b). La Figure N°17 présente les pourcentages d'inhibition des différents extraits.

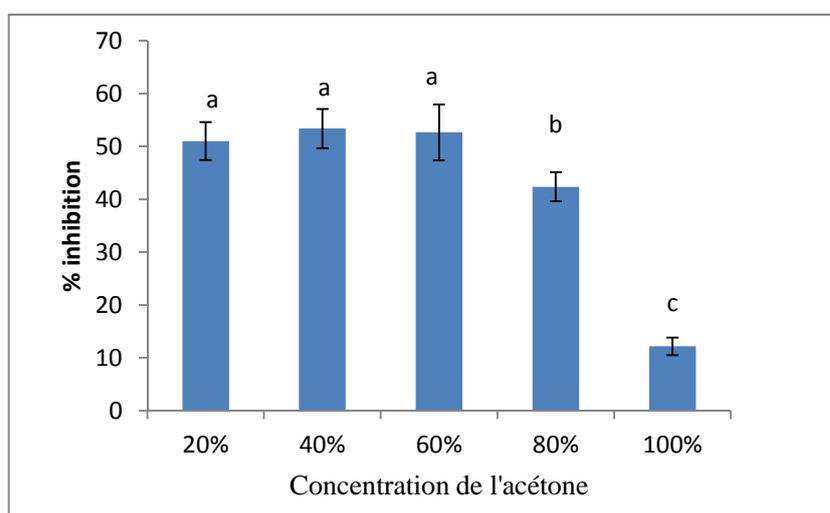


Figure 17 : Activité anti-radicalaire des extraits obtenus par différentes concentrations de l'acétone.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts-types.

L'activité anti-radicalaire des extraits de jujube analysée est élevée et présente une différence non significative ($p < 0,05$) pour les extraits à l'acétone 20%, 40% et 60% (50,99%, 53,36% et 52,63% respectivement). Par contre il y a une différence significative pour l'acétone 80% (42,35%) et 100% (12,17%).

Le type de solvant et la polarité affectent le transfert d'électrons et d'atomes d'hydrogène qui représente un aspect clé dans la mesure de l'activité antioxydante.

L'activité antiradicalaire dépend de la structure des composés phénoliques contribuant à leur capacité de transfert d'électron/donneur d'hydrogène (Williams *et al.*, 1995) ; elle pourrait également être due aux effets synergiques entre diverses classes d'antioxydants présents dans les extraits (composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, caroténoïdes, etc.)

III.3.1.3- Choix du solvant pour la deuxième étape

L'acétone à 40% est sélectionnée comme solvant de choix pour l'extraction des composés phénoliques pour les raisons suivantes :

- Efficacité élevée d'extraction des polyphénols totaux (14161,04 mg EAG/100g du broyat)
- Capacité élevée de réduire le fer ferrique en fer ferreux (18,04 mg EAG/100g du broyat). Selon Shi *et al.*, (2003), certains sucres (glucose et fructose) et acides aminés peuvent modifier le pouvoir réducteur et agir comme antioxydant. C'est le cas de l'acétone à 20%.
- Activité antiradicalaire la plus élevée (53,36%)

III.3.2- Optimisation de puissance ultrasonique (étape 2)

L'extraction assistée au ultrasons est une méthode efficace pour extraire les composés organique des plantes notamment les composés phénoliques totaux (Li *et al.*, 2007b).

III.3.2.1- Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques du broyat de jujube est significativement affectée par les puissances ultrasoniques ($p < 0,05$). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits à l'acétone 40% à différentes puissances ultrasoniques (20%, 40%, 60%, 80% et 100%) sont présentés dans la figure N°18.

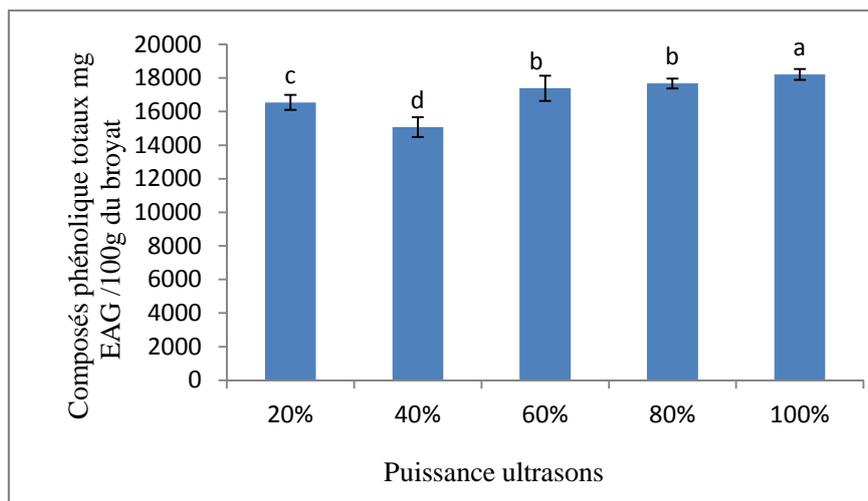


Figure 18: Teneurs en composés phénoliques des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).

Les barres verticales représentent les écarts-types

Les teneurs en polyphénols totaux mesurés par la méthode du Folin-Ciocalteu des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques présentent l'ordre décroissant suivant :

Puissance 100% (18209,62 mg EAG/100g du broyat) > Puissance 80% (17672,81 mg EAG/100g du broyat) = Puissance 60% (17389,41 mg EAG/100g du broyat) > Puissance 20% (16549,70 mg EAG/100g du broyat) > Puissance 40% (15077,22 mg EAG/100g du broyat). Ces résultats montrent que la puissance ultrasonique idéale pour l'extraction des composés phénoliques est la puissance 100% (18209,62 mg EAG/100g du broyat de fruit de jujube). Ce qui montre que l'augmentation des ultrasons permet l'augmentation de rendement d'extraction. Cela est dû aux cavitations produites par des ondes sonores dans un milieu liquide dont les effets sonochimiques se traduisent entre autres par des améliorations de rendement notamment l'extraction des polyphénols totaux (**Xu et al., 2013**).

Les cavitation générées par les ultrasons désorganisent la structure des parois cellulaires et produisent l'accélération de la diffusion (la pénétration de solvant dans la matrice échantillon, augmentant la surface de contact entre la phase solide et liquide, à travers la membrane, la lyse des cellules et donc la libération de contenus cellulaires (**Rajaei et al., 2010**).

D'après **Fooladi et al., (2007)**, la grande teneur en composés phénoliques de l'extrait jujube est obtenue pour la puissance ultrasonique 96%. Ce qui confirme que l'amplitude favorise le transfert de masse et libération des polyphénols totaux. Selon **Chavan et Singhal, (2013)**, c'est l'amplitude 30% qui donne une valeur maximum de polyphénols totaux (362,59 mg EAG/g de l'échantillon) à partir d'*Areca catechu L.*

III.3.2.2- Activité antioxydants et anti- radicalaire

➤ Pouvoir réducteur

Les résultats de pouvoir réducteur des extraits obtenus sous différentes puissance ultrasonique (20%, 40%, 60%, 80% et 100%) sont présentés dans la figure N°19.

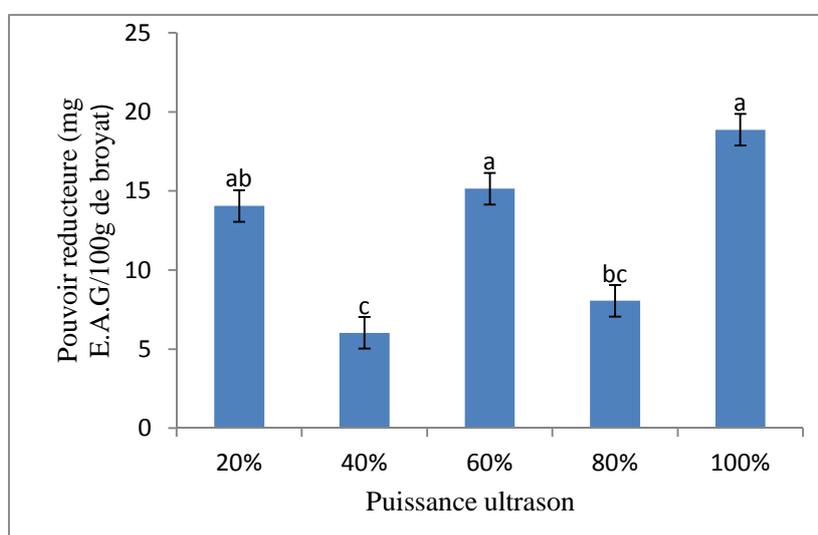


Figure 19: Pouvoir réducteur des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts-types.

L'étude statistique montre que les puissances ultrasoniques 100% et 60% donnent un meilleur pouvoir réducteur (18,86 mg EAG/100g ; 15,14 mg EAG/100g, respectivement) avec une différence non significative, suivi des amplitudes 20% (14,05 mg EAG/100g), 80% (8,05 mg EAG/100g) et 40% (6,03 mg EAG/100g) (**Dangles, 2006**).

➤ **Activité anti-radicalaire**

La figure 20 représente les pourcentages d'inhibition du radical DPPH des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques (20%, 40%, 60%, 80% et 100%)

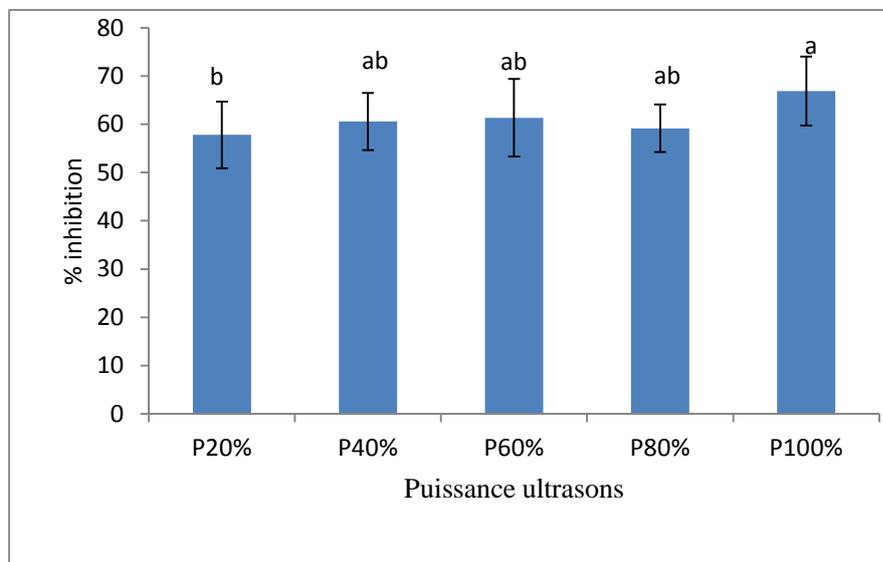


Figure20 : Activité anti-radicalaire des extraits obtenus par différentes puissances ultrasoniques.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts-types.

L'étude statistique montre une meilleure activité anti-radicalaire de *Ziziphus jujuba* pour l'amplitude 100% (66,91%) suivi des amplitudes 40% (61,36 %), 60% (60,59%), 80% (59,17%) qui présentent une différence non significative et de l'amplitude 20% (57,82%).

III.3.2.3- Choix de la puissance pour la troisième étape

La puissance ultrasonique 100% est sélectionnée pour les raisons suivantes :

- Meilleur rendement d'extraction des polyphénols totaux (18209,62 mg EAG/100g du broyat).
- Capacité élevée de réduire le fer ferrique en fer ferreux.
- Activité anti-radicalaire élevée 66,91%.

III.3.3- Optimisation du temps d'extraction (étape3)

Le temps d'extraction est un autre paramètre qui influence le rendement d'extraction des polyphénols totaux ce qui le considère comme un facteur d'optimisation (Lee *et al.*, 2005).

III.3.3.1-Dosage des polyphénols totaux

La figure N°21 présente les teneurs en composés phénolique exprimés en mg EAG/100g du broyat en fonction des différents temps de sonication a l'amplitude 100%.

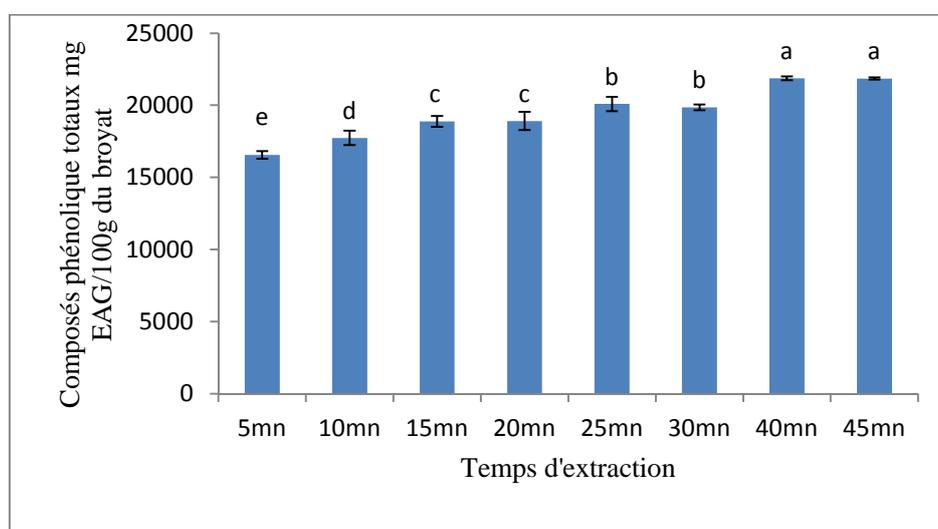


Figure 21 : Teneurs en composés phénolique des extraits obtenus à différents temps d'extraction.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts-types.

Selon les résultats obtenus, l'augmentation de la durée d'extraction de 5 à 45 mn est accompagné par une élévation de la teneur en polyphénols totaux de 16555,70 mg EAG/100g à 21857,84 mg EAG/100g du broyat de *Ziziphus jujuba*.

L'efficacité du temps d'extraction mené à donner les valeurs suivantes :

40 mn (21880,34 mg EAG/100g du broyat) > 45mn (21857,84 mg EAG/100g du broyat) >
25 mn (20088,46 mg EAG/100g du broyat) > 30 mn (19856,04 mg EAG/100g du broyat) >
20mn (18912,87 mg EAG/100g du broyat) > 15mn (18888,88 mg EAG/100g du broyat) >

10mn (17732,79 mg EAG/100g du broyat) > 5mn (16555,70 mg EAG/100g du broyat). Donc le temps représente un facteur favorable pour l'extraction ultrasonique (**Han et al., 2011**).

Selon **Liyana-Pathirana et Shahidi, (2005)**, Le temps optimal pour l'extraction des polyphénols totaux à partir des grains de blé dur et mou est une heure et selon **Nepote et al., (2005)** 10mn est le temps optimal pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la peau d'arachide. D'après ces résultats l'optimisation du temps d'extraction diffère d'une matrice végétale à l'autre.

Le taux des composés phénoliques obtenus dans la présente étude est de 21880,34 mg EAG/100g du broyat de *Ziziphus jujuba* (Figure 20), ce résultat est supérieur à celui rapporté par **Zhao et al.,(2015)** qui est de 1298.9 mg EAG/100g du broyat. Cette différence peut être due aux paramètres optimisés et au stade de maturation du fruit.

III.3.3.2-Activité antioxydants et anti-radicalaire

➤ Pouvoir réducteur

Les résultats de pouvoir réducteur des extraits obtenus au cours du temps (5mn, 10mn, 15mn, 20mn, 25mn, 30mn, 40mn et 45mn) sont présentés dans la figure N°22.

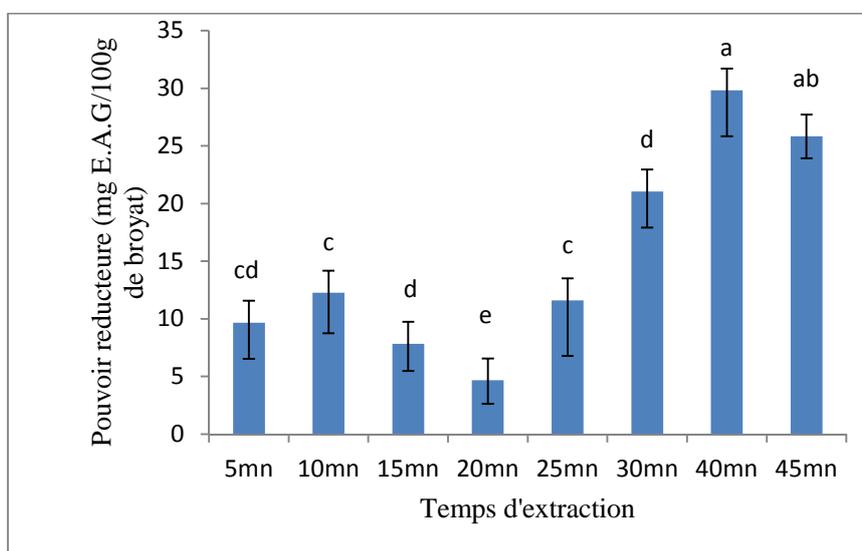


Figure 22 : Pouvoir réducteur des extraits obtenus à différents temps d'extraction.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent les écarts-types.

Selon les résultats obtenus, le plus grand pouvoir réducteur est obtenu après 40 mn (29,81 mg EAG/100g du broyat) de sonication suivi de celui de 45 mn (25,83 mg EAG/100g du broyat), 30mn (21,04 mg EAG/100g du broyat), 25mn (11,61 mg EAG/100g du broyat) et 10mn (12,27 mg EAG/100g du broyat), ces valeurs ne diffèrent pas significativement et les temps 5mn, 15mn et 20mn présentent les pouvoirs ; 9,67 mg, 7,84 mg et 4,67 mg EAG/100g du broyat, respectivement.

La capacité de réduire le fer ferrique en fer ferreux augmente avec l'augmentation du temps d'extraction des polyphénols totaux de 5mn (9,67 mg EAG/100g du broyat) jusqu'au 40mn (29,81 mg EAG/100g du broyat)

➤ Activité anti-radicalaire DPPH

La figure N° 23 représente les pourcentages de neutralisation de radical DPPH des extraits de fruit de jujube en fonction du temps.

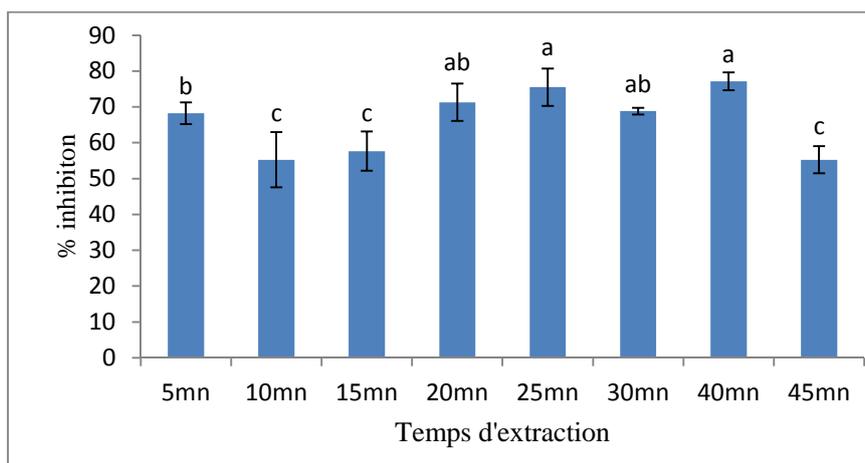


Figure 23 : Activité anti-radicalaire des extraits obtenus à différents temps d'extraction.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$).
Les barres verticales représentent les écarts-types.

L'étude statistique de l'activité anti-radicalaire des extraits montre l'ordre décroissant suivant :

40mn (77,17%) = 25mn (75,50%) > 20mn (71,31%) > 30mn (68,83%) = 5mn (68,24%)
> 15mn (57,66%) = 10mn (55,25%) = 45mn (55,25%).

La diminution de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité anti-radicalaire) pour la durée 45mn est due à la décomposition des composés phénoliques. Donc un temps prolongé d'extraction détruit la structure chimique des polyphénols (**Bachirbey *et al.*, 2013**).

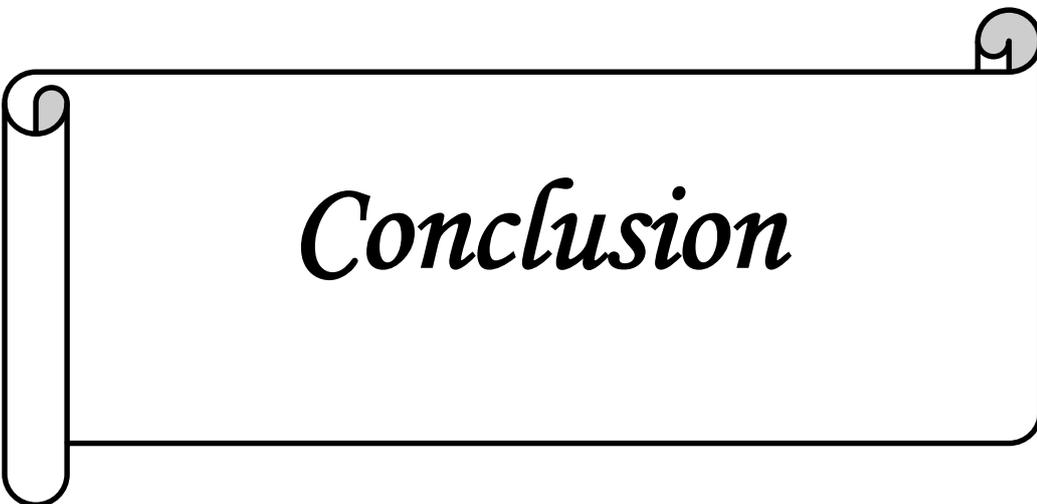
Les résultats obtenus dans la présente étude (77,17%) sont inférieurs à ceux rapportés par **Kim *et al.*, (2013)**, qui ont obtenus (89,42%) pour le jujube noir.

III.3.3.3- Choix du temps d'extraction

Le choix du temps 40mn est sélectionné pour les raisons suivantes :

- Meilleur rendement d'extraction des composés phénoliques (21880,34 mg EAG/100g du broyat).
- Efficacité de réduire le fer ferrique en fer ferreux (29,81 mg EAG/100g du broyat).
- Activité antiradicalaire élevée (77,17%).

D'après notre étude, l'optimisation du solvant d'extraction (acétone 40%) et des ultrasons (100%) révèle une évolution de taux des polyphénols totaux de 28,58%, une évolution de 4,37% pour le pouvoir réducteur et une évolution de 26,42% de l'activité anti-radical DPPH. L'optimisation du temps d'extraction des polyphénols révèle une augmentation de taux des polyphénols totaux de 20,15%, pouvoir réducteur de 58,05% et activité anti-radical DPPH de 15,28%.



Conclusion

Conclusion

L'objectif de ce travail est la réalisation de quelques analyses physico-chimique (Humidité, pH, acidité, brix, teneurs en sucres totaux et teneurs en protéines totaux) et l'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols à savoir le type du solvant (acétone 20%, 40%, 60%, 80% et 100%), la puissance ultrasonique (20%, 40%, 60%, 80% et 100%) et le temps d'extraction (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 et 45mn) à partir du fruit de jujube « *Ziziphus jujuba* » par la détermination de la teneur en composés phénolique et l'évaluation de leur activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité anti-radical DPPH). Le degré de signification des données est pris à la probabilité $P = 0,05$.

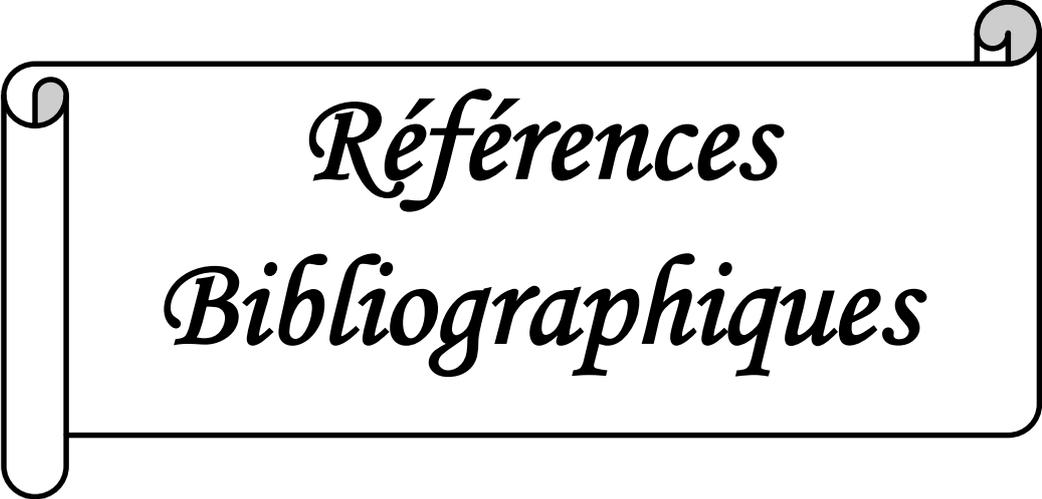
Les analyses physico-chimiques effectuées sur le fruit de *Ziziphus jujuba* montre sa richesse en sucres ($12522,97 \pm 296,03$ mg/100g du broyat), protéines ($88,70 \pm 5,92$ mg BSA/100g du broyat) et pH acide de ce fruit ($4,49 \pm 0$). La teneur en caroténoïdes du broyat est $1,97 \pm 0,15$ mg E C/100g du broyat).

D'après notre étude, l'optimisation du solvant d'extraction (acétone 40%) et la puissance ultrasonique (l'amplitude 100%) révèle une évolution des taux des polyphénols totaux de 28,58%, une évolution de 4,37% pour le pouvoir réducteur et une évolution de 26,42% de l'activité anti-radical DPPH. L'optimisation du temps (40mn) d'extraction des polyphénols révèle une augmentation de taux des polyphénols totaux de 20,15%, du pouvoir réducteur de 58,05% et de l'activité anti-radical DPPH de 15,28%.

Les facteurs optimisés (acétone 40%, puissance ultrasonique 100% et temps d'extraction de 40 mn) ont permis d'obtenir un rendement d'extraction des polyphénols totaux (21880,34 mg EAG/100g du broyat) un pouvoir réducteur de 29,81 mg EAG/100g du broyat, et une activité anti-radicalaire DPPH de 77,17%).

Pour compléter ces résultats il est intéressant d' :

- Optimiser d'autres paramètres influençant le taux d'extraction des polyphénols
- Utiliser des techniques d'analyses plus performantes telles que la HPLC et la RMN afin d'identifier la composition des extraits.
- Elargir l'échantillonnage et analyser l'effet de l'origine géographique sur la composition en antioxydants et sur leur activité biologique.



*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques

«A»

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. et Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cellule and Environment*, 24(12): 1337-1344.
- Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, k. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and phenolique compounds of pisticia lentiscus L. *Journal of Fundamental and applied Science*, 6(1): 79-93.

«B»

- Bachirbey, M., Louaileche, H. et Zemouri, S. (2013). Optimization of phenolic compound recovery and antioxidant activity of light and dark dried fig (*Ficus carica* L.) varieties. *Food Science and Biotechnology*, 22: 1613-1619.
- Balakrishnan, A., Balasubramaniyam, P.D. et Natesan, S. K. (2012). Antipyretic Activity of *Zizyphus jujuba* lam Leaves. *Journal of Advanced Scientific Research*, 3(3): 40-42.
- Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9: 5-21.
- Beckamane, K. B. et Ames, B. N. (1998). The Free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 78 (2): 547-581.
- Benchikh, Y. et Louailèche. H. (2014a). Effects of extraction conditions on the recovery of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp. *Acta Botanica Gallica*, 161(2): 175-181.
- Benchikh, Y., Louailèche. H., George, B., Merlin, A. (2014b). Changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) as influenced by fruit ripening. *Industrial Crops and Products*, 60: 298–303.
- Bradford, M. M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Bucic-Kojic, A., Planinic, M., Tomas, S., Blic, M. et Velic, D. (2007). Study of sold extraction kinetics of totalpolyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 81:236-242.

« C »

- Chaalal, M., Touati, N. and Louaileche, H. (2012). Extraction of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant capacity of prickly pear seeds, *Acta Botanica Gallica*, 159 (4): 467–475.
- Cacace, J. E. et Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59(4): 379-389.
- Chao Chin, H., Jau Tien, L., Fung Jou, L., Fen Pi, C. et Deng Jye, Y. (2008). Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan capacity of the legal carotenoids extract. *Food Chemistry*, 109: 439-446.
- Chavan, Yogita. Et Singhal, Rekha S. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (*Areca catechu* L.) and optimization study using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17: 106–113
- Chew, Y.L., Goh, J.K. et Lim Y.Y. (2009). Assessment of *in vitro* antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herb from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, 116: 13-18.
- Choi, S. H., Ahn, J. B., Kozukue, N., Levin, C. E., et Friedman, M. (2011). Distribution of free amino acids, flavonoids, total phenolics, and antioxidative activities of Jujube (*Ziziphus jujuba*) fruits and seeds harvested from plants grown in Korea. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59: 6594–6604.
- Chouaibi, M., Mahfoudhi, N. et Rezig, L. (2012). Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L seeds. *J Sci Food Agric*, 92(6): 1171–7.
- Chu, W. L., Lim, Y. W., Radhakrishnan, A. K. et Lim, P. E. (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10 (53): 2-8.

« D »

- Dangles, O. (2006). Propriétés chimiques des polyphénols dans les polyphénols en agroalimentaire. *Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Lavoisier*. 29-50.
- Delattre, J., Beaudoux J.L., D. Bonnefont. et Rousselot. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. *Aspects biologiques et pathologiques*, 87-108.

- Derbel, S. et Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et nutrition*, 1: 28-34.
- Dewick, P. M. (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Naturals Product Reports*, 12: 579-607.
- Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K. et Maiga, A. (2004). Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Chimie*, 7: 1073–1080.
- Dibert, K. et Cros, E. (1989). Solvent extraction of oil and chlorogenic from green coffee, PartII: Kinetic data. *Journal of Food Engineering*, 10(3): 199-214.

« E »

- Eddouks, M., Farid, O. et Lemhadri, A. (2004). Phytothérapie du diabète : cas du Maroc. *Phytothérapie*, 5(4): 194-203.
- Escribano-Bailon, M.T. et Santos-Buegla, C. (2003). Polyphenol extraction from food. In « Method in polyphenol analysis ». ed. *Royal Society of Chemistry*, 1-16.
- Esteki, T. et Urooj, A. (2012). Phytochemical Profile and Antioxidant Potential of Different Tissues of *Ziziphus jujuba* mille. *International Journal of Food Nutrition and Safety*. 1(3): 144-115.
- Evans, R. J. et Reynhout, G. S. (1992). Alternates to synthetic antioxidants. *Food Science and human Nutrition*, 29: 27-42.

« F »

- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*, 108-117.
- Fontaine, E., Barnourd, D., Schwebel, C., et Lerverve, X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique. *Réanimation*. 11 : 411-20.
- Fooladi, H., Mortazavi, Seyyed Ali., Rajaei, A. E. R, Amir H., Salar B, Davoud Savabi Sani Kargar, S. (2007). Optimize the extraction of phenolic compounds of jujube (*Ziziphus Jujube*) using ultrasound-assisted extraction method. *Food Science and Technology*, 1-6.

« G »

- Galindo, A., Noguera-Artiaga, L., Zulma N. Cruz, Z. N., Burlo, F., Hernandez, F., Torrecillas, A., Carbonell-Barrachina, A. A. (2015). Sensory and physico-chemical quality attributes of jujube fruits as affected by crop load. *Food Science and Technology*, 1-7.
- Gao, Q. H., Wu, C. S. et 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: 3351–3363.
- Gao, Q. H., Wu, C. S., Yu, J. G., Wang, M., Ma, Y. J. et Li, C. L. (2012). Textural characteristic, antioxidant activity, sugar, organic acid and phenolic profiles of 10 promising jujube (*Ziziphus jujuba Mill.*) selections. *Journal of Food Science*, 77(11): 1218–C1225.
- Gao, Q-H., Wu, P-T., Liu, J. R., Wu, C. S., John, W., Parry, J. W., Wang, M. (2011). Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (*Ziziphus jujube Mill.*) cultivars grown in loess plateau of China. *Scientia Horticulturae*, 130: 67-72.
- Ghedira, K., Chemli, R., Richard, B., Nuzillard, J., Zeches, M., et Le, L., (1993). Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *J. Phytochem*, 32(6):1591-1594.
- Gilman, E. F. et Watson, D. G. (1994). *Ziziphus jujuba* chinese date. *Fact Sheet*. ST-680: 1-3.
- Ghitescu, R. E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A. M., Gilca, I. A. et Popa, V. I. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22:535–541.
- Goula, A. M. (2013). Ultrasound-Assisted Extraction of Pomegranate Seed Oil – Kinetic Modeling. *Journal of Food Engineering*, 117: 492-498.
- Grigonis, D., Venskutonis, P. R., Sivik, B., Sandahl, M. et Eskilsson, C. S. (2005). Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3): 223-233.
- Guo, S., Duan, J. A., Qian, D., Tang, Y., Wu, D., Su, S., Wang, H. et Zhao, Y. (2015). Content variations of triterpenic acid, nucleoside, nucleobase, and sugar in jujube (*Ziziphus jujuba*) fruit during ripening. *Food Chemistry*, 167:468–474.

- Gülçin, I., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. et Elias, R. (2006). The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hederacolchica*: 3-O-(–D glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research*, 20:130-134.
- Gutierrez, A., Del Rio J. C, Gonzalez-Vila F. J. et Martin F. (1999). Chemical composition of lipophilic extractives from *Eucalyptus globules* Labill. wood. *Holzforschung*, 53 (5):481-486.
- Guyot, S., Marn. et, N., Drilleau, J. (2001). Thiolytic-HPLC characterization of apple procyanidins covering a large range of polymerization states. *J. Agrical Food Chememistry*, 49: 14-20.

« H »

- Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence?. *The Lancet*, 344 (8924): 721-724.
- Han, L., Hai, D. Z., Shi. S.S.L. et Kai, L. (2011). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of total phenol from betel (*Areca catechu* L) nut seed and evaluation of antioxydant activity in vitro. *African Journal of Biotechnology Vol*, 10(46): 9289-9296.
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G. et Rakesh, D, D. (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants..ICS-UNIDO*. p 23-24.
- He, L., Xu, H., Liu, X., He, W., Yuan, F., Hou, Z., et al. (2011). Identification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L) seed residues and investigation into their antioxidant capacities by HPLC-ABTS (+) assay. *Food Research International*, 44 (5): 1161–1167.

« K »

- Kaufmann, B., P. Christen. et al. (2001). Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides. *Phytochemical Analysis*, 12: 327-331.
- Kim, J-E., Kim, M-A., Kim, S-J., Park, D.C., et Lee, S.P. (2013). Enhancing the Organoleptic and Functional Properties of Jujube by a Quick Aging Process. *Preventive Nutriion and Food Science*, 18(1): 50-59.
- King, A. et Young, G, (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals, *Journal of the American Dietetic Association*, 99: 213-218.
- Knaggs, A.R. (2003). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*, 20: 119–36.

- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 165-177.
- Kojo, S. (2004). Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr. Med. Chem*, 11(8): 1041-64.
- Kou, X., Chen, Q., Li, X., Li, M., Kan, C., Chen, B., Zhang, Y. et Xue, Z. (2015). Quantitative assessment of bioactive compounds and the antioxidant activity of 15 jujube cultivars. *Food Chemistry*, 173: 1037–1044.
- Kumar, M.S.Y., Dutta, R., Prasad, D. et Misra, K. (2011). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Seabuckthorn (*Hippophaerhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 127: 1309–1316.

« L »

- Ladoh Yemeda, C. F., Dibong S. D., Nyegue M. A., Djembissi Talla R. P., Lenta Ndjakou B., Mpondo Mpondo, E., Yinyang J., Wansi J. D. (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (*Loranthaceae*) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*, 84:7636 - 7643.
- Landis, G.N. et Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation., *Food Chemistry*, 26: 365-379.
- Larrauri, J. A., Ruperez, P. et Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxydant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1390-1393.
- Lee, J., Koo, N. et Min, D. B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3 (1): 21-33.
- Lee, B.K., Jung J. et Coi. Y. H. (2005). Optimization of microwave-assisted extraction process of *Rehmania Radix preparata* by response surface methodology. *Food Engineering Progres*, 9:283-290.
- Lee, H. S. et Castle, W. S. (2001). Seasonal changes of carotenoid pigments and color in Hamlin, Earlygold, and Budd Blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 877- 882.
- Lehtinen, P. et Laakso, S. (1998). Effect of extraction conditions on the recovery and potency of antioxydants in oat fiber. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4842-4845.

- Li, G., Wu, L., Wei, J., Xu, S., Huang, H., Gao, X. et Hu, Q. (2013). Two new flavonoids from the fruits of *Ziziphus jujuba*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49(4): 617-620.
- Li, J. W., Fan, L. P., Ding, S. D. et Ding, L. X. (2007a). Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food chemistry*, 103: 454-560.
- Li, J. W., Ding, S. D., Ding, X. L. (2007b). Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujube* cv. jinsixiaozao. *Journal of Food Engineering*, 80: 176–183.
- Luque, M. D., De Castro, M. D., et Garcia-Ayuso, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*, 369 (1998): 1-10.
- Liu, M. et Zhao Z. (2009). Germplasm resources and production of jujube in China. *ISHS Acta Horticulturae*, 840: 25 – 32.
- Liyana-Pathirana C, Shahidi, F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, 93: 47-56.

« M »

- Mahmoudi, S., Khali, M.A. et Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Nature et Technologie*, 9 :35-40.
- Malik, A., Kuliev, Z. A., Akhmedov, U. A., Vdovin, A.D. et Abdullaev, N. D. (2002). New oligomeric proanthocyanidine from *Ziziphus jujuba*. *Chemistry of Natural Compounds*, 38(1):40-42.
- Manache, C., Rhodes, Williamson, G., Morrand, C., Scalbert, A. et Remesy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1): 230-242.
- Mandal, V., Mohan, Y. et Hemalatha, S. (2007). Microwave assisted extraction - an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1): 7-18.
- Mandal, S. (2010). Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L) roots in response to elicitors, *African Journal of Biotechnology*, 9(47) : 8038 – 8047.

- Marian, N. et Freidoon, S. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054:95-111.

« N »

- Naczk, M. et Shahidi, F. (2006). Phenolic in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.
- Nepote, V., Grosso, N.R, Guzmán, C. A. (2005). Optimization of extraction of phenolic antioxidants from peanut skins. *J. Sci. Food Agr*, 85: 33-38.

« P »

- Panchal, S., Panchal, K., Vyas, N., Modi, K., Patel, V., Bharadia, P. et Pundarikakshudu, K. (2010). Antiulcer Activity of Methanolic Extract of *Ziziphus mauritiana* stem bark. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 2(3): 6-11.
- Pareek, S., L. Kitinoja, R. A. Kaushik et R. Paliwal. (2009). Postharvest physiology and storage of ber. *Stew. Posthar. Rev.* 5(5):1-10.
- Penchev, P., Angelov, G. et Condoret, J.S. (2010). Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Revue de génie industriel*, 5 :115-123.
- Pétrier, C., Gondrexon, N. et Boldo, P. (2008). Ultrasons et sonochimie. *Techniques de l'ingénieur AF*, 6310 : 1-14.
- Picinnelli Lobo A. P., Garcia Y. D., Sanchez J. M., Madrera R. R et Valles B. S. (2009). Phenolic and antioxidant composition of cider. *Journal of food composition and Analysis*, 22: 644-648.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. et Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16: 233-239.
- Potters, G., Gara, L. d., Asard, H. et Horemans, N. (2002). Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40: 537-548.

- Preeti et Shalini Tripath. (2014). *Ziziphus jujuba*: A phytopharmacological review, *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*, 3(3): 959-966.

« R »

- Rajaei, A., Barzegar, M., Hamidi, Z et Sahari, M. A. (2010). Optimization of Extraction Conditions of Phenolic Compounds from Pistachio (*Pistachiavera*) Green Hull through Response Surface Method. *J. Agr. Sci. Tech*, 12: 605-615.
- Reighard, T. S. et Olesik, S. V. (2006). Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 26 (23): 1-39.
- Rodrigo, R., Miranda, A. et Vergara, L. (2011). Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta*, 412: 410-424.
- Roede, J. R. et Jones, D. P. (2010). Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 51: 380-390.
- Rostagno, M.A., Palma, M. et Barroso, C.G. (2007). Microwave assisted extraction of soy isoflavones. *Anal. Chim. Acta*, 588:274-282.

« S »

- San, B. et Yildirim, A. N. (2010). Phenolics, alpha-tocopherol, beta-carotene, and fatty acid composition of four promising jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) selections. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 706–710.
- Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire. Paris : Lavoisier*. P. 2-11.
- Sean, R. H. et Lytle, M. (2001). Les antioxydants. *Feuille d'information*, 1-5.
- Siedentopp, U. (2008). Chinese Jujube/Jujube Date: Effective for Weakness and Lack of Appetite. *German Journal of Aupuncture and Related techniques*, 51(3): 58-61.
- Shi J, Yu J, Pohorly J, Young C, Bryan M, Wu Y. (2013). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *J. Food Agr. Environ*, 1: 42-47.

- Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S. et Nacro, M. (2010). Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal des Sciences*, 10 (2): 24 – 32.

« T »

- Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., et Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104: 1372–1378.

« U »

- Urquiaga I. N. E. S. et Leighton F. E. D. E. (2000). Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res*, 33: 55-64.

« V »

- Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. et Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.
- Vashishtha, B. B., Pareek, O. P., Rasekharan, I. et Ghamin, A. (1989). Chemotaxonomic relationship among jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk) cultivars and some related species. *Annals of the Arid Zone*, 28 (1-2): 123-132.
- Vidrih, R., Ulrih, NP., Zlati, E., Hribar, J. et Prgomet, Z. (2008). The nutritional and physico-chemical properties of ripe (*Ziziphus jujuba*) fruits grown in Istria. *Acta Hort (ISHS)*, 840: 525-528.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 303-313.
- Vorbach, C., Harrison, R. et Capecchi, M. R. (2003). Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends in Immunology*, 24:512-517.

« W »

- Wang, H., Chen, F., Yang, H., Chen, Y., Zhang, L., An, H. (2012). Effects of ripening stage and cultivar on physicochemical properties and pectin nanostructures of jujubes. *Carbohydrate Polymers*, 89: 1180-1188.
- Wang, C., Cheng, D., Cao, J. et Jiang, W. (2013). Antioxidant capacity and chemical constituents of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) at different ripening stages. *Food Science and Biotechnology*, 22: 639 – 644.

- Wang, L. et Waller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 300-312.
- Williams W.B., Cuvelier M. E. et Berset C. (1995). Use of free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm-Wiss. Technology*, 28: 25-30.

« X »

- Xi, X., Wei, X., Wang, Y., Chu, Q. et Xiao, J. (2010). Determination of teapolsaccharides in *Camellia sinensis* by a modified phenol-sulfuric acid method. *Archives of Biological Sciences*, 62(3): 669-676.
- Xu, B.J. et Chang, S.K. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J. Food Sci*, 72: 159-166.
- Xu, Y. et Pan, S.Y. (2013). Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise* Macf.), ultrason. *Sonochemistry*, 20: 1026-1032.

« Y »

- Yen G.C et Chen H.Y. (1995). antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47: 23-32.

« Z »

- Zhao, H. X., Zhang, H.S. et Yan, S.F. (2015). Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food Science and Human Wellness*, 1-8.
- Zhao, Z.H., Liu, M.J. et Tu, P.F. (2008). Characterization of water soluble polysaccharides from organs of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. Dongzao). *European Food Research and Technology*, 226 (5): 985-989.
- Zhang H, Jiang L, Ye, S, Ye, Y. B, et Ren F. Z. (2010). Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill) from China. *Food Chemistry Toxicol*, 48:1461-1465.
- Zeghal, K. M et Sahnoun, Z. (2013). La réaction inflammatoire et le stress oxydant. In: Rouxville, Yves. *Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes*. Paris : Guy Mazars. P. 47-53.

- Ziaev, R., Irgashev, T., Israilov, I.A., Abdullaev, N.D., Yunusov, M.S. et Yunusov, S. (1997). Alkaloids of *Ziziphus jujuba* structure of yuziphine and yuzirine. *Khim Prir Soedin*, 2: 239-243.

Annexe 1

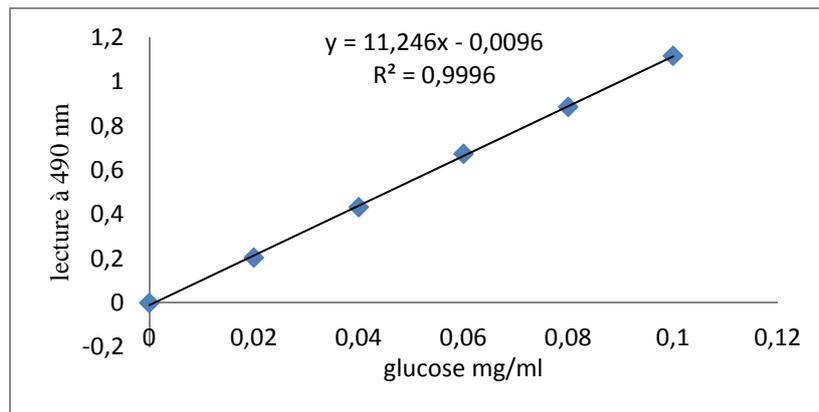


Figure A : Courbe d'étalonnage des sucres totaux

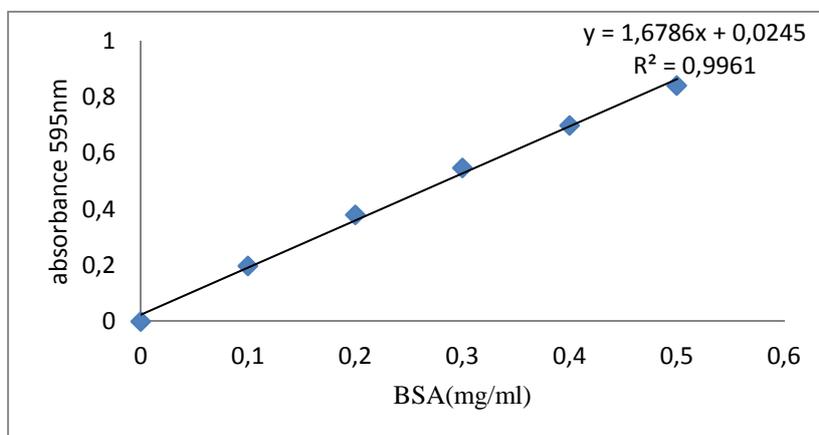


Figure B : courbe d'étalonnage des protéines

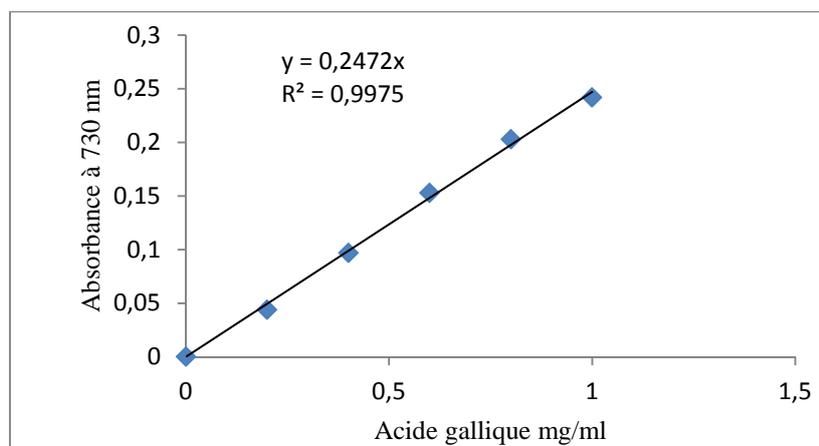


Figure C : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux

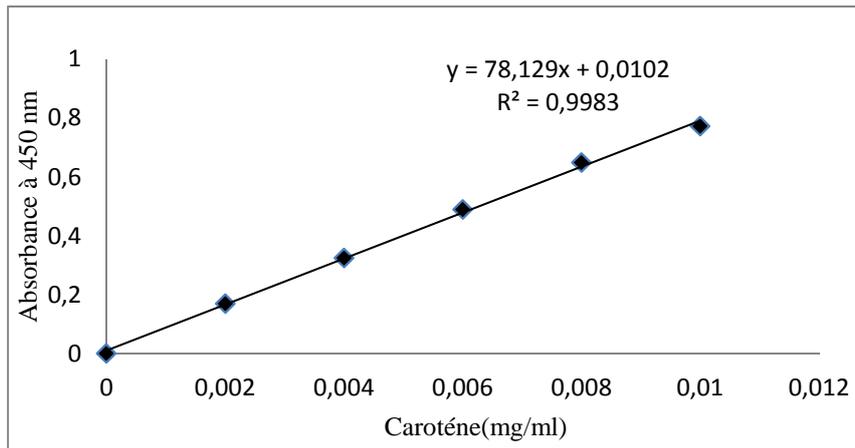


Figure D : courbe d'étalonnage des caroténoïdes

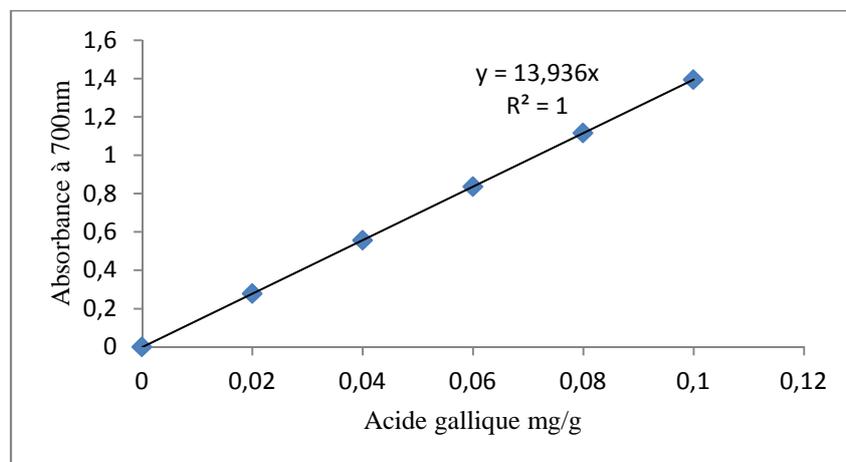


Figure E : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

Résumé

Le fruit de *Ziziphus jujuba* est très riche en composés phénoliques et présente une activité antioxydante élevée. L'objectif de ce travail est la réalisation de quelques paramètres physico-chimiques et l'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols à différentes concentrations d'acétone (20%, 40%, 60%, 80% et 100%), la puissance ultrasonique (20%, 40%, 60%, 80% et 100%) et le temps d'extraction (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 et 45 mn). La teneur en composés phénoliques est déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu et leur activité antioxydante est déterminée par la mesure de l'activité anti-radical DPPH et le pouvoir réducteur. Les meilleures conditions obtenues pour l'extraction des polyphénols sont : le solvant acétone 40%, la puissance ultrasonique 100% pendant un temps d'extraction de 40 mn permettent d'avoir une teneur en polyphénols de 21880,34 mg EAG/100g du broyat, un pouvoir réducteur de 29,81 mg EAG/100 g du broyat et une activité anti-radical DPPH de 77,17%.

Mots clés : *Ziziphus jujuba*, optimisation, composés phénoliques, ultrason, activité antioxydante.

Abstract

Ziziphus jujuba fruit is very rich in phenolic contents and present a high antioxidant activity. The aim of this study is realization of some physico-chemical parameters and optimization of extraction conditions of total phenolic compounds from jujube fruit with different acetone concentration (20%, 40%, 60%, 80% and 100%), ultrasonic power (20%, 40%, 60%, 80% and 100%) and time of extraction (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 and 45 mn). The content of phenolic compounds is given according to the method of Folin-Ciocalteu and the antioxidant activity is determined by the measurement of free radical-scavenging (DPPH) and reducing power. The best condition were obtained with acetone 40%, ultrasonic power 100% at 40 mn, these condition resulted in total phenolic content concentration of 21880,34 mg EAG/100g, reducing power 29,81 mg EAG/100G of the broyat and free radical-scavenging activity 77,17%.

Keywords: *Ziziphus jujuba*, optimization, phenolic compounds, ultrasonic, antioxidant activity

فاكهة العناب غنية بالمركبات الفينولية و لها نشاط بيولوجي كبير والهدف من هذا العمل هو دراسة بعض العوامل الفيزيوكيميائية وتحسين استخراج البوليفينول باستخدام الأسيتون (20% , 40% , 60% , 80% , 100%) , الصوتية (20% , 40% , 60% , 80% , 100%) (5 , 10 , 15 , 20 , 25 , 30 , 40 , 45) . تحدد كمية البوليفينول بطريقة فلان سيوكالتو وطريقة كسدة بقياس الاستطاعة الرجعية و الالكترونات المعدلة. الظروف الجيدة الفيلونية هي : أسيتون 40% , فوق الصوتية 100% 40 د.هذه لنا باستخراج كمية البوليفينول 21880,34 لي / 100 غ و استطاعة رجعية 29,81 ليك / 100 يقدر 77,17% .

كلمات المفاتيح: تحسين, المركبات الفينولية, فاكهة العناب