

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



Réf :.....

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

## **MASTER**

### *Thème*

**Effets des méthodes d'extraction (agitation, microonde et sonication) sur les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits de feuilles et de graines de *Ziziphus jujuba*.**

Présenté par :

**AICHE Yamina & AIT AISSA Sonia**

Soutenu le : **20 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

|                                    |     |            |
|------------------------------------|-----|------------|
| M <sup>elle</sup> CHAHER Nassima   | MCB | Présidente |
| M <sup>me</sup> ALIOUI- ZEMOURI S. | MAA | Encadreur  |
| M <sup>r</sup> HAMMOUM Mohand      | MAA | Examineur  |

**Année universitaire : 2016 / 2017**

## **Remerciements**

*C'est avec un réel plaisir que nous réservent ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail. et toutes les personnes qui sont présent autour de nous à ce moment.*

*Avant tout, Avant tous, j'adresse mes remerciements les plus sincères tout d'abord au « **bon dieu** » le plus puissant, qui m'a donné santé, courage et volonté pour mener à terme ce modeste travail.*

*Nous tenons à présenter tout d'abord notre profonde gratitude :*

*À **M<sup>me</sup> ALIOUI-ZEMOURI** notre promotrice enseignante au département des Biologie physico-Chimique de la faculté des sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Bejaïa pour ses précieux conseils de tout ordre, sa disponibilité, sa patience, son attention qu'elle a apporté et sa gentillesse tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*On tient à exprimer nos sincères gratitudes à **M<sup>elle</sup> CHAHER Nassima** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury et d'évaluer notre travail.*

*Nos remerciement vont également à **Mr HAMMOUM Mohand** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenant à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire BPC pour les bons moments passés qui ne pourront que rester inoubliables pour nous.*

*Nous remercions vivement la doctorante **M<sup>elle</sup> DJAOUDENE Ourda** de laboratoire science alimentaire à sa gentillesse, sympathie qui nous a soutenus dans la réalisation de ce travail.*

*On souhaite adresser à tous ceux et celles qui ont été d'un apport petit ou grand à la réalisation de ce modeste travail, on leur exprime nos remerciements les plus sincères.*

## *Dédicaces*

*Je ne trouve aucun mot ou expression, qui vont exprimer mes vifs sentiments de gratitude et remerciements*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la mémoire de ma chère grande mère et mon chère oncle que la clémence de dieu soit sur eux.*

*A la plus merveilleuse mère, qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance pour ses sacrifices et son soutien.*

*A mes chères oncles et oncles et à mon grand-père.*

*A mon frère Azwaw.*

*Aux petits koukou Anis, Rayane, Iyad, yucef et Mahdi.*

*A toute ma famille et mes amis.*

*A toutes mes chères copine Malika, Katia et mon binôme Sonia.*

*A toutes les personnes qui me sont chères ...*

*A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée*

*Yamina*

## *Dédicaces*

*Je ne trouve aucun mot ou expression, qui vont exprimer mes vifs sentiments de gratitude et remerciements ;*

*Grace à ma volonté, mon acharnement, DIEUX tout puissant qu'il m'a donnée du courage pour réaliser ce travail que je dédie :*

*A mes très chers parents, symbole de reconnaissance et de remerciement surtout ce qu'il mon donné dans ma vie et auxquels je ne pourrais leurs rendre assez.*

*A mon unique sœur Naima.*

*A mes frères Ali, Mourad et Massinissa.*

*A mes adorables princes Youba et Kocela.*

*A la personne qui est très chère pour moi.*

*A toute ma famille sans exception.*

*A mon binôme et chère copine Yamina.*

*A mes copines Lamia, Ahlam et Malika.*

*A l'ensemble des étudiants de ma promotion : Biochimie appliquée.*

*Et a ceux qui mon aidé de près ou de loi à réaliser ce travail.*

*Sonia*



**ABTS** : Acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium.

**ANOVA** : Analyse de variation.

**ASE** : Extraction accélérée par solvants.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone.

**DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

**EA** : Extraction sous agitation.

**EAA** : Equivalent acide ascorbique.

**EAG** : Equivalent acide gallique.

**EC3G** : Equivalent de la Cyanidine-3-Glycosylée.

**Eβ-C** : Equivalent de β-Carotène.

**EQ** : Equivalent Quercétine.

**ET** : Equivalent Trolox.

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux.

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

**FRAP**: Capacité réductrices ferrique d'antioxydants.

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance.

**5-[HT.1A]** : 5-hydroxytryptamine.

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium.

**K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>** : Persulfate de potassium.

**MAE** : Extraction assistée par microondes.

**MAP** : Extraction assistée par microondes sans solvant.

**MS** : Matière Sèche.

## *LISTE DES ABBREVIATIONS*

---

**OH** : Groupe Hydroxyle.

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**SFE** : Extraction avec des fluides supercritiques.

**TCA**: Acide trichloroacétique.

**tr/min** : Tour par minute.

**UAE** : Extraction assistée aux ultrasons.

**VMHD** : Hydrodistillation par microondes sous vide.

Liste des abréviations

Liste des figures

INTRODUCTION.....01

## **Chapitre I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

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

I.1.1. Classification de *Ziziphus jujuba*.....04

I.1.2. Description botanique.....04

I.1.3. Compositions chimiques et biochimiques.....05

I.1.4. Récolte et production.....05

I.1.5. Propriété pharmacologique de *Ziziphus jujuba*.....06

**I.2. Méthodes d'extraction des molécules bioactives de**

***Ziziphus jujuba*.....07**

I.2.1. Extraction par soxhlet.....07

I.2.2. Extraction par hydro-distillation.....08

I.2.3. Extraction par infusion.....08

I.2.4. Extraction par décoction.....08

I.2.5. L'extraction accélérée par solvants.....08

I.2.6. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.....08

**I.3. Méthodes d'extraction effectuées.....09**

I.3.1. Extraction par macération.....09

I.3.2. Extraction assistée aux ultrasons.....09

I.3.3. Extraction assistée par micro-ondes.....10

## **Chapitre II: MATERIEL ET METHODES**

**II.1. Echantillonnage.....13**

**II.2. Préparation des extraits.....13**

II.2.1. Extraction par macération..... 13

II.2.2. Extraction assistée aux ultrasons.....14



|   |           |
|---|-----------|
| II.2.3. Extraction assistée par microondes.....   | 15        |
| <b>II.3. Dosages des antioxydants.....</b>  | <b>15</b> |
| II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....  | 15        |
| II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....   | 16        |
| II.3.3. Dosage des proanthocyanidines.....  | 16        |
| II.3.4. Dosage des caroténoïdes.....  | 17        |
| <b>II.4. Détermination de l'activité antioxydant et antiradicalaire.....</b>                            | <b>18</b> |
| II.4.1. Pouvoir réducteur.....  | 18        |
| II.4.2. Activité antiradicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....                              | 19        |
| II.4.3. Activité antiradicalaire 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-acide<br>sulfonique (ABTS) ..... | 19        |
| <b>II.5. L'analyse statistique.....</b>   | <b>20</b> |

### **Chapitre III: RESULTATS ET DISCUSSION**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>III. Résultats.....</b>  | <b>21</b> |
| <b>III.1. Dosages des antioxydants.....</b>   | <b>21</b> |
| III.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....   | 21        |
| III.1.2. Dosage des flavonoïdes.....  | 23        |
| III.1.3. Dosage des proanthocyanidines.....   | 25        |
| III.1.4. Dosage des caroténoïdes.....   | 27        |
| <b>III.2. Détermination de l'activité antioxydant et antiradicalaire.....</b>                             | <b>28</b> |
| III.2.1. Pouvoir réducteur.....   | 28        |
| III.2.2. Activité antiradicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....                               | 30        |
| III.2.3. Activité antiradicalaire acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-<br>sulfonique (ABTS) ..... | 32        |
| <b>III-3- Discussion.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>CONCLUSION.....</b>  | <b>39</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>   | <b>40</b> |
| <b>Annexes</b>  |           |



| <b>Figures</b> | <b>Titres</b>   | <b>Pages</b> |
|----------------|---|--------------|
| <b>01</b>      | Répartition géographique des espèces de la famille des Rhamnacées.  | 03           |
| <b>02</b>      | Différentes parties de <i>Ziziphus jujuba</i> (a) Feuilles, (b) Fleurs et (c) Fruits.   | 05           |
| <b>03</b>      | Structure chimique de la Ziziphine.   | 05           |
| <b>04</b>      | Image d'un agitateur magnétique.  | 09           |
| <b>05</b>      | Image d'un sonicateur.  | 09           |
| <b>06</b>      | Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore.   | 10           |
| <b>07</b>      | Image d'une micro-onde.   | 11           |
| <b>08</b>      | Représentation schématique de comportement des molécules possédant un dipôle en absence de champ électrique, sous l'effet d'un champ électrique continu et sous l'effet d'un champ électrique de haute fréquence. | 12           |
| <b>09</b>      | Photographie des feuilles (a) et des graines (b,c) de <i>Ziziphus jujuba</i> .  | 13           |
| <b>10</b>      | Photographie d'un agitateur.  | 14           |
| <b>11</b>      | Photographie d'un sonicateur.   | 14           |
| <b>12</b>      | Photographie d'une micro-onde.  | 15           |
| <b>13</b>      | Teneur en composés phénoliques des extraits des feuilles (a) et des graines (b) de <i>Ziziphus jujuba</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction.  | 21           |
| <b>14</b>      | Teneurs en flavonoïdes des extraits de feuilles (a) et de graines (b) de <i>Ziziphus jujuba</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction.  | 23           |
| <b>15</b>      | Teneurs en proanthocyanidines des extraits de feuilles (a) et de graines (b) de <i>Ziziphus jujuba</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction.   | 25           |
| <b>16</b>      | Teneurs en caroténoïdes des extraits de <i>Ziziphus jujuba</i> .  | 26           |
| <b>17</b>      | Pouvoir réducteur des extraits des feuilles (a) et des graines (b) de   | 27           |

## *LISTE DES FIGURES*

---

|           |  |    |
|-----------|--|----|
|           | <i>Ziziphus jujuba</i> obtenus par différentes méthodes d'extraction.  |    |
| <b>18</b> | Structure chimique de radical libre DPPH'.   | 29 |
| <b>19</b> | Mécanisme réactionnel de la réduction du radical DPPH'.  | 29 |
| <b>20</b> | Activité scavenger à l'égard de radical libre DPPH des extraits de feuilles (a) et de graines (b) de jujubier obtenus par différentes méthodes d'extraction. | 30 |
| <b>21</b> | Mécanisme réactionnel de la réduction du radical d'ABTS.   | 31 |
| <b>22</b> | Activité de piégeage d'ABTS sur les extraits de feuilles (a) et de graines (b) de jujubier obtenus par différentes méthodes d'extraction.                    | 32 |
| <b>23</b> | Image sous microscope indiquant la différence entre le taux de destruction des structures cellulaires de la matière végétale par EA (a) et MAE (b)           | 34 |
| <b>24</b> | Schéma démonstratif de la diffusion des composants bioactives par EA (a) et EAU (b)  | 36 |

---

# *INTRODUCTION*

---

Les plantes constituent une source inépuisable de molécules naturelles bioactives. Les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques pour leurs éventuelles utilisation comme alternatives, particulièrement pour la protection contre le stress oxydative et le traitement de plusieurs maladies (**Bazílio Omena et al., 2012**).

*Ziziphus jujuba* est un arbre fruitier appartenant à la famille des Rhamnacées, il est principalement distribué dans les régions subtropicales et tropicales d'Asie et d'Amérique, cultivé depuis 4000 ans en chine (**Li et al., 2007**). Cette plante est riche en composants bioactives comme la vitamine C, flavonoïdes, triterpenoïdes et polysaccharides (**Gao et al., 2011**).

Le jujubier fait partie, avec la datte, le raisin sec et la figue sèche, des quatre fruits pectoraux. Il est utilisé dans la médecine traditionnelle chinoise pour sa haute valeur nutritionnelle et présente diverses activités biologiques y compris les activités anti-inflammatoires, antibactériennes, anti-stéroïdes, anxiolytiques, antiulcéreuses, immunostimulantes, antioxydantes et autres (**Wang et al., 2013**).

La diversité des molécules naturelles bioactives rendent le choix des processus d'obtention très important. Pour cela, différents procédés conventionnels et innovants d'extraction sont utilisés comme source potentielle pouvant constituer une alternative aux produits de synthèse, tel que l'extraction par soxhlet, l'hydro-distillation, l'infusion, la décoction, l'agitation et la digestion (**Alupului et al., 2009**), l'extraction assistée par microondes, l'extraction accélérée par solvants, l'extraction assistée aux ultrasons et l'extraction avec des fluides supercritiques (**Sahin et al., 2013**).

Les méthodes innovatrices tel que l'extraction assistée par microondes, l'extraction assisté aux ultrasons offrent de nombreux avantages d'un point de vue du temps d'extraction, de la consommation de solvant, de rendement d'extraction et de la reproductibilité et cela sans altérer la qualité de l'extrait. De plus, ces techniques sont simples à utiliser, automatiques et souvent plus sélectives (**Prommajak et al., 2014**).

La présente étude inclue deux parties principales :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui présente la description de *Ziziphus jujuba* et les différentes méthodes d'extraction des polyphénols.

La deuxième partie de ce travail est une étude expérimentale qui a pour but de :

- ❖ Déterminer la meilleure méthode d'extraction (extraction assistée par microondes, extraction assistée aux ultrasons et extraction par macération) de feuilles et de graines de *Ziziphus jujuba*.
- ❖ Evaluer des teneurs en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, proanthocyanidines et caroténoïdes) et mesure de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et l'activité anti-radicalaire (DPPH et ABTS)) des différents extraits.

---

*REVUE*

*BIBLIOGRAPHIQUE*

---



## I.1. Généralités sur *Ziziphus jujuba*

Les plantes médicinales ont fait l'objet de beaucoup d'études grâce aux principes actifs qui diffèrent d'une plante à une autre créant ainsi une biodiversité notable. Le jujubier est la génération la plus importante de la famille des Rhamnacées (Guo *et al.*, 2011). C'est un petit arbre buissonnant appelé communément Sedra, N'beg, Zerb, Azzougar, Tazouggart ou Annab (El Hachimi *et al.*, 2015). Elle comprend environ 170 espèces distribuées dans la plupart des régions du monde (Akhter *et al.*, 2013). Il existe plusieurs espèces du genre *Ziziphus* qui sont cultivés en Asie, ensuite elle s'est éparpillée en Afrique et en Europe tels que : *Ziziphus lotus*, *Ziziphus spinachristi* Willd, *Ziziphus celata*, *Ziziphus madecassus* H. Perr et *Ziziphus mauritania* Lamk (Munier, 1973).

Cette plante est à usages multiples et présentes un intérêt écologique indéniable, car elle est capable de se développer sur tout type de sol, dont le système racinaire puissant explore les sols en profondeur. Le genre *Ziziphus* occupe une vaste aire de répartition allant du continent asiatique en passant par le bassin méditerranéen jusqu'à atteindre le continent américain, il s'avère d'être d'une grande importance du point de vue environnemental et socio-économique (Bâa *et al.*, 2001). (Figure 01)

Les espèces fruitières de *Z. jujuba* à grand potentiel de sélection, introduites dans plus de 30 pays et représentent des exemples extraordinaires de plantes pérennes à divers usages dans les zones arides et semi-arides voire même désertiques de presque tous les continents grâce à leurs capacités de résistance à la sécheresse et leurs mécanismes physiologiques et morphologiques d'adaptation (Laamouri *et al.*, 2008).



**Figure 01** : Répartition géographique des espèces de la famille des Rhamnacées (Dupont *et al.*, 2012).

### I.1.1. Classification de *Ziziphus jujuba*

La classification de *Z. jujuba* est complexe, ce qui a laissé les auteurs attribuer les mêmes nominations à cette espèce. Mais actuellement, la classification adoptée est celle de **Laamouri, (2009)** :

**Embranchement** : Spermatophytes.

**Sous embranchement** : Angiospermes.

**Sous classe** : Dicotylédones.

**Ordre** : Rhamnales.

**Famille** : Rhamnacées.

**Genre** : *Ziziphus*.

**Espèce** : *Ziziphus jujuba* Miller.

### I.1.2. Description botanique

*Z. jujuba* est un arbre ou arbuste épineux à croissance lente qui se trouve soit à l'état isolé, soit en peuplements purs qui peut atteindre 3 à 8 m de haut et 50 à 60 cm de diamètre du tronc. Il est à port arrondi, à ramure tortueuse, à brindilles (effilées, verdâtres, souvent épineuse) et à écorce fissurée (**Bâa et al., 2001**).

Les feuilles sont simples, caduques, alternes, trinervées, courtement pétiolées, ovales et à bords finement dentées. La face supérieure est verte claire tandis que la face inférieure est verte pâle. Les rameaux fleurissent et donnent de petites fleurs jaunes qui sont disposées en cyme. Le fruit est une drupe charnue ovoïde qui ressemble à une belle olive. Il est d'abord jaune puis rouge à maturité ; sa pulpe est sucrée, gélatineuse et à saveur fade (**Hamedi et al., 2015**). Le jujube se flétrit pour atteindre la consistance et le goût d'une datte, d'où son surnom de datte chinoise (**Akhter et al., 2013**). (Figure 02)



(a) Feuilles

(b) Fleurs

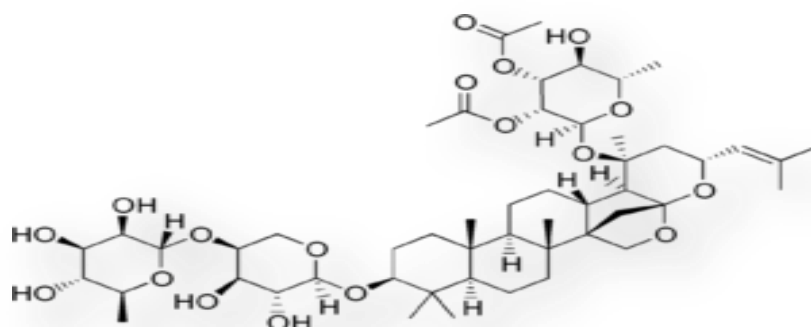
(c) Fruits

**Figure 02 :** Différentes parties de *Ziziphus jujuba* (a) Feuilles, (b) Fleurs et (c) Fruits (Wang *et al.*, 2013).

### I.1.3. Compositions chimiques et biochimiques

Le fruit de *Ziziphus jujuba* contient 64 à 85% d'eau, 0,4 à 0,73% de matière minérale, 20 à 32% de sucres, 0,8 à 2,1% de protéines et 0,1 à 0,3% de lipides (Preeti *et al.*, 2014). La pulpe est très riche en glucides ainsi en vitamines A, C (Memona *et al.*, 2013). Aussi le jujube est riche en polysaccharides et en 18 acides aminés qui ont certains effets sur l'être humain (Wang *et al.*, 2012).

Plusieurs études ont affirmés la richesse de jujubier en alcaloïdes, en flavonoïdes, en stéroïdes, en tanins, en saponines et en triterpénoïdes (Ganachari *et al.*, 2004). En particulier, les feuilles contiennent des alcaloïdes différents, y compris la ziziphine (Figure 03), jubanine, amphibine, alpha terpinol, linalol et saponines diverses.



**Figure 03:** Structure chimique de la Ziziphine (Sigoillot *et al.*, 2015).

### I.1.4. Récolte et production

Le jujubier est un arbre productif et le rendement varie beaucoup avec les variétés et les soins apportés à la culture. En général, le rendement peut atteindre de 100 à 150 kg/arbre.

La pleine production commence généralement entre 10 et 12 ans et se poursuit jusqu'à 30 ans environ, ensuite les plantes dépérissent. La récolte est pratiquée quand les fruits sont complètement mûrs, généralement elle a lieu aux mois de Septembre et Octobre. Les fruits, à l'état frais, supportent des manipulations de récolte, transport et stockage. Cependant, leur conservation dans des entrepôts peut s'étendre sur plusieurs années dès que les produits sont bien séchés (**Benahmed djilali et al., 2015**).

### **I.1.5. Propriétés pharmacologiques de *Ziziphus jujuba***

Mise à part le potentiel nutritif qu'il recèle, le jujubier a constitué un aliment diététique, il figure dans la liste « A » des plantes médicinales selon la pharmacopée française (**Benahmed djilali et al., 2015**). Et dans ce contexte plusieurs propriétés pharmacologiques sont reconnues pour différents parties de cette plante :

- La feuille de *Z. jujuba* est reconnue comme étant hypoglycémiant et provoque une augmentation du taux de glycogène du foie ;
- La graine de *Z. jujuba* a un effet antiallergique et engendrent une réaction antigène/anticorps et inhibe la libération d'histamine (**Goetz et al., 2009**).

Le jujubier fait partie des plantes ayant des vertus médicinales, il est utilisé comme antifongiques, antibactériennes, antiulcéreux, anti-inflammatoires, sédatifs, antispasmodiques, stérilisants, hypotenseurs, cardiotoniques, antioxydants, immunostimulants et aussi pour ses propriétés de cicatrisation (**Al-Saeedi et al., 2016**).

#### ➤ **Exemple d'un mécanisme d'action de la graine de *Z. jujuba* sur l'insomnie (effet sédatif/hypnotique)**

L'inquiétude est devenue un véritable espace de recherche dans la psychopharmacologie, elle est la cause principale de l'insomnie d'endormissement, le réveil précoce (**Peng et al., 2000**). La graine de *Z. jujuba* est considérée comme sédatif/hypnotique et ce par le Jujuboside A-B, ses flavonoïdes et ses saponines (**Liao et al., 2012**). Par ailleurs, le jujubier s'applique dans l'insomnie et le nervosisme grâce à l'oléamide qu'il contient, ce dernier se trouve naturellement dans le système nerveux central où il est naturellement synthétisé. Cet oléamide (acide 9-octadécénoïque) facilite le sommeil et a aussi une action sur la mémoire. Le Jujuboside A à un effet synergique avec la phénylalanine sur le système nerveux central (**Goetz et al., 2009**).

Il est sédatif non-anticonvulsivant, sédativo-hypnotique au niveau de l'hippocampe et régule le système sérotonergique afin d'inhiber les cellules CA1 de l'hippocampe suractivé. Les saponines I et II prolongent le sommeil induit par les barbituriques, provoquent un accroissement du temps de sommeil par le récepteur sérotonine-1A (5-hydroxytryptamine, 5-HT<sub>1A</sub>). Ils ont un effet sur le temps de locomotion et sur la coordination locomotrice (Yang *et al.*, 2013).

### **I.2. Méthodes d'extraction des molécules bioactives de *Ziziphus jujuba***

L'extraction de principe actif à haute valeur est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des molécules bioactives naturelles (Mahmoudi *et al.*, 2013). C'est la séparation sélective des parties actives des tissus végétaux des composants inactifs ou inertes à l'aide des solvants (Oroian *et al.*, 2015).

La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte.

Parmi les méthodes d'extraction, on cite ; l'extraction par soxhlet, l'hydro-distillation (ou par entraînement à la vapeur d'eau), l'infusion, la décoction, l'extraction assistée par macération et la digestion qui sont des techniques conventionnelles (Azmir *et al.*, 2013) et d'autres nouvelles dont on peut évoquer l'extraction assistée par microondes (Microwave assisted extraction (MAE)), l'extraction accélérée par solvants (Accelerated solvent extraction (ASE)), l'extraction assistée aux ultrasons (Ultrasound assisted extraction (UAE)) et l'extraction avec des fluides supercritiques (Supercritical fluid extraction (SFE)) (Bashi *et al.*, 2012).

#### **I.2.1. Extraction par soxhlet**

L'extraction par soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (Subramanian *et al.*, 2016).

### **I.2.2. Extraction par hydro-distillation**

L'hydro-distillation consiste à distiller un composé par entraînement à la vapeur selon un phénomène physique particulier : la création d'un azéotrope (mélange de deux liquides qui bout à température fixe et ne se distille pas en bouillant). La vapeur d'eau chargée en molécules organiques est condensée puis récupérée (Wollinger *et al.*, 2016).

### **I.2.3. Extraction par infusion**

C'est un procédé simple et rapide qui permet une bonne extraction des principes actifs, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et le bien tromper pour dissoudre les principes actifs. Elle convient pour l'extraction des parties fragiles des plantes : feuilles, fleurs, graines, écorces et racines (Konkon *et al.*, 2006).

### **I.2.4. Extraction par décoction**

Elle est utilisée pour l'extraction de matières végétales compactes: bois, écorces et racines. Elle consiste à chauffer les plantes fraîches ou séchées avec de l'eau pendant 10 à 30 min ; jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante et les constituants se dissolvent (Mahmoudi *et al.*, 2013).

### **I.2.5. L'extraction accélérée par solvants**

C'est une technique qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50-200 °C) et des pressions (100-150 bar). Cette dernière est maintenue assez élevée pour garder le solvant à l'état liquide qui reste toujours en dessous de ses conditions critiques (Gourguillon *et al.*, 2016).

### **I.2.6. Extraction au dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) supercritique**

Elle est basée sur l'utilisation comme solvant (CO<sub>2</sub>) dans son état supercritique (ni liquide ni gazeux). Le CO<sub>2</sub> en phase supercritique est d'un pouvoir extractant remarquable, car il est inerte chimiquement et non toxique. En plus, la récupération de l'extrait est facile par simple détente du gaz puisque le CO<sub>2</sub> est à l'état supercritique (Gourguillon *et al.*, 2016).

### I.3. Méthodes d'extraction effectuées

#### I.3.1. Extraction par macération

Elle consiste à mettre une plante ou une partie de plante soluble à froid. C'est la mise en contact de la substance avec un solvant pendant un temps variable (plusieurs heures, voire même plusieurs jours) à une température ambiante pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser (Azmir *et al.*, 2013). (Figure 04)



Figure 04 : Photo d'un agitateur magnétique.

#### I.3.2. Extraction assistée aux ultrasons

L'extraction des composés bioactifs par ultrason (20-100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. Elle est réalisée grâce à un appareil appelé sonicateur qui permet de transformer l'énergie électrique en vibration mécanique longitudinale le long d'une sonde, cette dernière permet de détruire les cellules biologiques en suspension (Prommajak *et al.*, 2014). (Figure 05)



Figure 05 : Photo d'un sonicateur (Origine).

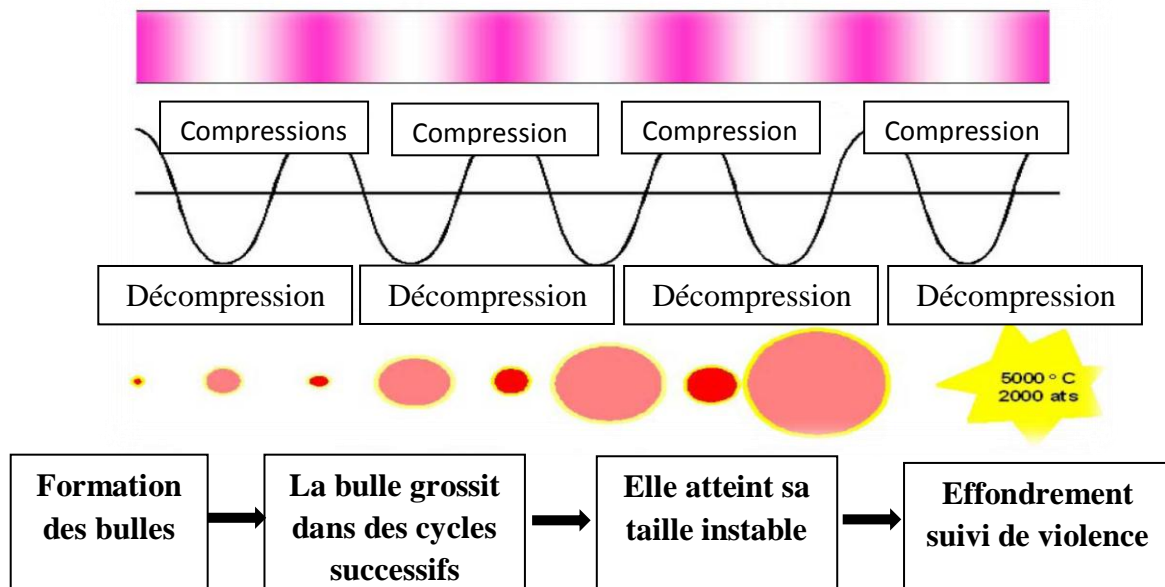
### I.3.2.1. Mécanisme d'action d'ultrasons

La matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons.

Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz à travers une succession des phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles, formées par l'expansion, vont se développer puis dégonfler, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapide (Bashi *et al.*, 2012). (Figure 06)

**Les mécanismes d'extraction 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 d'intérêt (Shirsath *et al.*, 2012 ; Li *et al.*, 2007).



**Figure 06 :** Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore (Mason *et al.*, 2002).

### I.3.3. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes de produits naturels d'origine végétale a fait l'objet de nombreux travaux publiés dans des revues scientifiques. Actuellement, les techniques d'extraction par micro-ondes les plus utilisées sont incontestablement tel que l'extraction assistée par micro-ondes par solvant « MAE » et sans solvant « MAP » mise à



part l'hydrodistillation par microondes sous vide ou vacuum microwave hydrodistillation « VMHD » et l'entraînement à l'air.

Cette extraction est une nouvelle technique caractérisée principalement par la rapidité, l'efficacité et la sélectivité. Elle implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière végétale (Alupului *et al.*, 2009). Contrairement aux techniques classiques de chauffage par conduction ou convection, le chauffage par microondes d'un produit résulte ainsi de la conversion en chaleur de l'énergie d'une onde électromagnétique au sein de ce matériau. Ce transfert d'énergie particulier induit un transfert de matière lui aussi particulier (Gourari *et al.*, 1992). (Figure 07)



Figure 07 : Photo d'un micro-onde.

### I.3.3.1. Mécanisme d'action d'un micro-onde

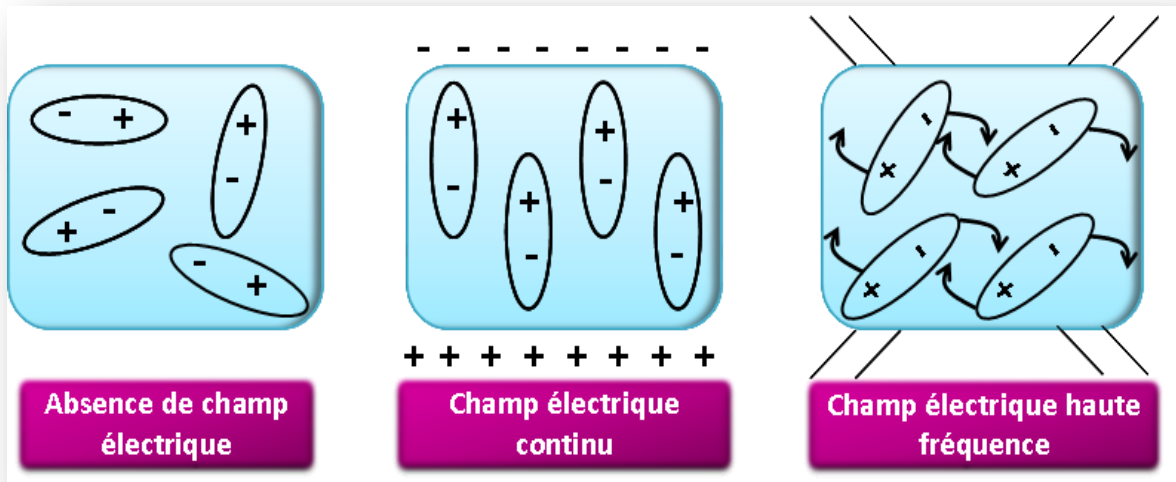
Il existe deux principaux mécanismes par lesquels les matériaux dissipent l'énergie micro-ondes : (Figure 08)

#### ➤ La rotation dipolaire

Elle se résume par l'alignement des molécules qui ont un moment dipolaire avec le champ électrique. Sous l'effet de champ électrique alternatif, les dipôles s'orientent dans un sens, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens lors du renversement de la polarité de champ. Après, l'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles. Cette dernière est transformée en chaleur : l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre les molécules (les forces de liaisons par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals).

➤ **La conduction ionique**

Elle représente l'aptitude du milieu à permettre au courant de circuler. La migration des ions conducteurs dissous avec le champ électrique oscillant et la production de chaleur est due à des pertes de frottement qui dépendent de la taille, de la charge et de la conductivité des ions ainsi que de leurs interactions avec le solvant (Gourguillon *et al.*, 2016).



**Figure 08:** Représentation schématique de comportement des molécules possédant un dipôle en absence de champ électrique, sous l'effet d'un champ électrique continu et sous l'effet d'un champ électrique de haute fréquence (Sparr Eskilson *et al.*, 2000).

---

*MATERIEL ET  
METHODES*

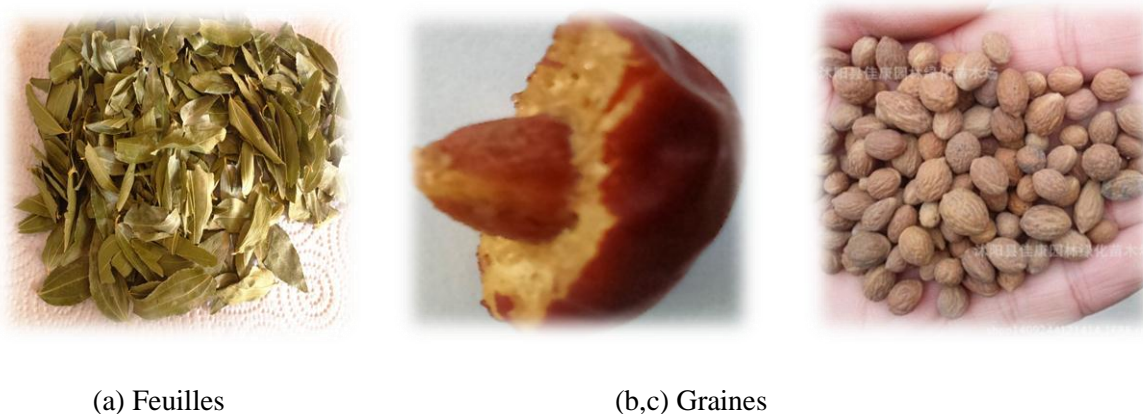
---

## II.1. Echantillonnage

Les feuilles et les graines de *Ziziphus jujuba* étudiés proviennent de la région de Kherrata située à la wilaya de Bejaia. En septembre 2015, les feuilles et les graines ont été récoltés au stade final de leurs maturités par la promotrice pour éviter les réactions de dégradation et de développement des moisissures identifier par Alioui–Zemouri.

Les feuilles de jujubier (Figure 09, a) ont été séchées à l'aire libre (20-25 jours) après dans l'étuve à 37 °C pendant 48 heures et à la fin broyées, tamisées pour obtenir une poudre fine et conservée dans des boites stériles.

Les graines de jujubier ont été séparées des fruits (Figure 09, b et c), broyées et tamisées pour obtenir une poudre fine et conservée dans des boites stériles à 4 °C.



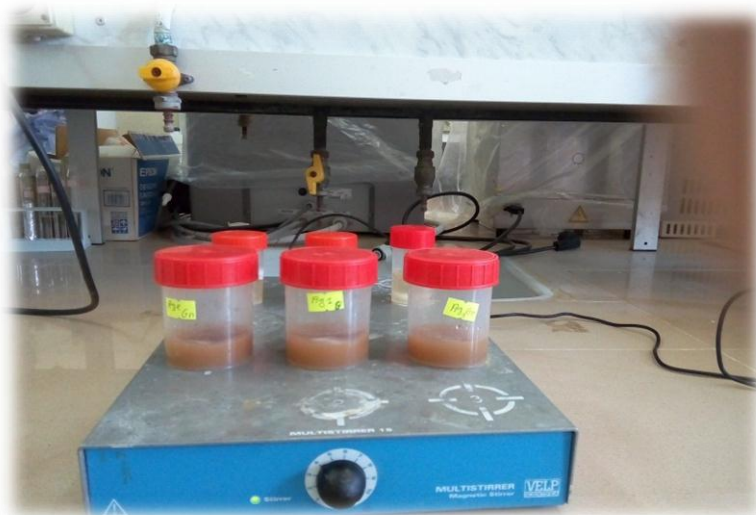
**Figure 09** : Photographie de feuilles (a) et de graines (b,c) de *Ziziphus jujuba*.(Origine)

## II.2. Préparation des extraits

Trois méthodes d'extraction sont utilisées afin d'obtenir les différents extraits de feuilles et de graines de *Ziziphus jujuba* :

### II.2.1. Extraction par macération

L'extraction des composés phénoliques par macération consiste à mélanger 0,1g de la poudre des feuilles avec 20 ml de solvant d'extraction : méthanol 60% ou acétone 50% et 0,4g de broyat de graines avec 20 ml de solvant d'extraction (méthanol 60% et acétone 50%), ensuite les mélanges sont mis sous agitation magnétique pendant 1 heure. Les extraits sont récupérés après centrifugation à 5000 tr/min pendant 10 min et filtration de surnageant (Mahmoudi *et al.*, 2013). (Figure 10)



**Figure 10 :** Photographie d'un agitateur (Origine).

### II.2.2. Extraction assistée aux ultrasons

L'extraction des composés phénoliques assistée aux ultrasons réside à mettre 0,1g de la poudre de feuilles dans 20 ml de solvant d'extraction (méthanol 60% ou acétone 50%) et 0,4g de broyat de graines dans 20 ml de solvant d'extraction (méthanol 60% ou acétone 50%), puis les mélanges sont placés dans le bain de sonicateur, la sonde de sonicateur est introduite dans le mélange avec une amplitude de 75%, l'extraction est effectuée pendant 15 min. Les extraits sont récupérés après centrifugation à 5000 tr/min pendant 10 min et filtration de surnageant (Sahin *et al.*, 2013). (Figure 11)



**Figure 11 :** Photographie d'un sonicateur (Origine).

### II.2.3. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction des composés phénoliques assistée par microondes consiste à mélanger 0,1g de la poudre de feuilles avec 20 ml de solvant d'extraction (méthanol 60% ou acétone 50%) et 0,4g de broyat de graines avec 20 ml de solvant d'extraction (méthanol 60% ou acétone 50%), après les mélanges sont placés dans un micro-onde réglée à la puissance 700 watt pendant 1 min. Les extraits sont récupérés après centrifugation à 5000 tr/min pendant 10 min et filtration de surnageant (**Baghdikian et al., 2016**). (Figure 12)



Figure 12 : Photographie d'une micro-onde (Origine).

## II.3. Dosages des antioxydants

### II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est fondé sur la réaction d'oxydoréduction. Le réactif de folin-ciocalteu est constitué de polyhétérocycles qui sont un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolibdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) (**Boizot et al., 2006**), il est réduit lors de l'oxydation des phénols qui se traduit par le développement d'une coloration bleue due à la formation d'un complexe de molybdène et tungstène, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité des polyphénols présent dans le milieu réactionnel (**Pélagie et al., 2015 ; Stagos et al., 2012**).

Le contenu en polyphénols totaux des extraits de *Z. jujuba* est estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi, (1965)**. Un volume de 200 $\mu$ l des solutions d'extraits sont ajoutées à 1000 $\mu$ l de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10). Après 5 min, 800 $\mu$ l de

carbonate de sodium (6%) sont additionnés. Le mélange est laissé réagir à l'obscurité durant 90 min à température ambiante, puis l'absorbance est lue à 740 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche (mg EAG/100 MS) en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions. (Figure 01, Annexe I)

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation d'un complexe très stable entre le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et les groupements hydroxydes (OH) des phénols, qui est doté d'une coloration jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'extrait.

La quantification des flavonoïdes est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium adaptée par **Djeridane et al. (2006)** avec quelques modifications. Elle consiste à mélanger 750µl d'extrait et 750µl de chlorure d'aluminium à 2%. Le mélange est laissé réagir pendant 15 min à l'obscurité puis l'absorbance est lue à 420 nm.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine. (Annexe I : Figure 02) Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par 100g de matière sèche (mg EQ/100 MS) (**Safdar et al., 2016**).

### II.3.3. Dosage des proanthocyanidines

Les proanthocyanidines appartiennent aux groupes des tannins condensées, qui possèdent une répétition d'une unité commune (flavan-3-ol) (**Vivas et al., 2006**).

500µl de chaque échantillon sont ajoutés à 3ml de butanol-Hcl (95:5) et 100µl de réactif ferrique (sulfate d'ammonium ferrique à 2%, Hcl 2M). Le mélange est incubé à 90 C° durant 15 min et l'absorbance est lue à 530 nm (**Maksimovic et al., 2005**).

Le calcul de la concentration en proanthocyanidines permet d'obtenir des résultats qui sont exprimés selon l'équation suivante :

$$C \text{ (mg/ml)} = 1000 \times MM \times A \times FD / \epsilon L$$

Avec : **A**: Absorbance

**MM** = 287,24 g/mol, masse molaire de la cyanidine-3-glycosylée.

**FD** : Facteur de dilution de l'échantillon analysé.

**L** : Longueur de la cellule mesuré en cm.

**$\epsilon$**  = 34700 L.mol/cm: le coefficient d'extinction molaire de la cyanidine-3-glycosylée.

Les teneurs en proanthocyanidines sont ensuite exprimées en mg équivalent de la cyanidine-3-glycosylée par 100 g de matière sèche (mg EC3G/100 g MS) (Teng *et al.*, 2014).

## II.3.4. Dosage des caroténoïdes

### II.3.4.1. Dosage des caroténoïdes de la graine de *Ziziphus jujuba*

Le dosage des caroténoïdes comporte deux phases : une phase apolaire (hexanique) qui permet de récupérer les caroténoïdes et une polaire (acétone et éthanol) pour éliminer les molécules hydrophiles.

La méthode utilisée pour le dosage des caroténoïdes est celle de Lee et Castle, (2001) qui consiste à ajouter 10 ml du mélange d'extraction Hexane/Acétone/ Ethanol (5: 2,5: 2,5) à 1 ml de chaque échantillon. Après 30 minutes d'agitation, le mélange est centrifugé à 5000 tr/min pendant 10 min. Après séparation des deux phases, la phase hexanique est récupérée (phase supérieure de couleur jaune) afin de doser les caroténoïdes au spectrophotomètre à 430 nm dans une cuve en verre.

### II.3.4.2. Dosage des caroténoïdes de la feuille de *Ziziphus jujuba*

Le dosage est établi par des méthodes spectrales qui se basent sur des longueurs d'ondes correspondantes aux absorbances maximales des caroténoïdes (Taniguchi *et al.*, 2017).

Le taux des caroténoïdes est mesuré par le protocole décrit par Zamora *et al.* (2005). Un mélange de 5 ml d'extrait avec 30 ml de solvant (Hexane / Acétone / Méthanol / Toluène :10 :7 :6 :7) est mis sous agitation pendant 15 min et gardé à l'abri à -4°C sur une durée de 16 heures, après en ajoute 2 ml de la solution KOH (1M) ensuite 30 ml d'hexane, 30 ml de la solution sulfate de sodium à 1% sont additionnés respectivement puis laissé décanter à l'abri de la lumière pendant 1 heure et récupérer la phase hexanique et lire l'absorbance à 430 nm.



La concentration en caroténoïdes est exprimée en mg équivalent de  $\beta$ -carotène/100 g de matière sèche (mg E $\beta$ -C/ 100g MS), en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions. (Figure 03, Annexe I)

## II.4. Détermination de l'activité antioxydante et antiradicalaire

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou extraits. Deux différents tests sont utilisés : Le premier est l'estimation du pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métallique (FRAP = ferric reducing antioxidant power). Le deuxième prend en considération le pouvoir antiradicalaire en mesurant la capacité de neutralisation d'un radical (DPPH $\bullet$ + et ABTS $\bullet$ +) par les antioxydants présents dans les échantillons (**Pélagie et al., 2015 ; Wang et al., 2012**).

### II.4.1. Pouvoir réducteur

L'analyse de pouvoir réducteur est basée sur la réduction de fer ferrique Fe $^{3+}$  du ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe $^{2+}$ ), en présence d'antioxydant réducteur. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Dar et al., 2017**).

Ce test est estimé par la méthode d'**Oyaizu, (1986)** avec quelques modifications. 500 $\mu$ l d'extrait est additionnées à 1,25 ml de tampon phosphate (0,2M, PH 6,6) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium K $_3$ Fe(CN) $_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min, ensuite 1,25 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés au mélange pour stopper la réaction. 1,25 ml de ce mélange sont récupérés et combinés à 1,25 ml d'eau distillé ensuite 500 $\mu$ l d'une solution aqueuse de Chlorure ferrique (FeCl $_3$ ) à 0,1% sont additionnées, enfin le mélange est laisser réagir 10 min à l'obscurité.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel est faite à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par 100 g de matière sèche (mg EAA/ 100g MS) en se référant à la courbe d'étalonnage (**Bougandoura et al., 2012**). (Figure 04, Annexe I)

#### II.4.2. Activité antiradicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

Le principe de ce test est basé sur la réaction de réduction de radical libre DPPH ayant une couleur violette par les antioxydants présents dans les extraits, suivi par une décoloration en un composé jaune qui représente la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (**Hidayat et al., 2017 ; Bourkhiss et al., 2010**).

L'effet antioxydant des extraits de *Z. jujuba vis-à-vis* du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par **Lillian et al. (2008)**. 1500µl de la solution de DPPH (60 mM) sont mélangées avec 100µl d'extraits. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par 100g de matière sèche (mg EAA/ 100 MS) en se référant à la courbe d'étalonnage. (Figure 05, Annexe I)

#### II.4.3. Activité antiradicalaire acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) :

La méthode qui détermine l'activité scavenger du radical ABTS est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS<sup>+</sup> de coloration bleue verte en le transformant en ABTS-H<sup>+</sup> incolore par un don d'hydrogène. La décroissance de l'absorbance causé par l'antioxydant indique la capacité de capture du radical libre (**Re et al., 1999**).

Le piégeage du radical cationique ABTS<sup>++</sup> est réalisé par la méthode de **Gao et al. (2011)**. La solution du radical cationique ABTS<sup>++</sup> a été préparée en mélangeant 2,45 mM d'ABTS avec 7 mM de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). Après 16 heures d'incubation la solution d'ABTS<sup>++</sup> a été diluée avec de méthanol, l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à 0,700 ± 0,020 à 734 nm avant l'usage.

Un volume de 50µl d'extrait est additionné à 1 ml de la solution d'ABTS fraîchement préparée. L'absorbance a été lue à 734 nm après 6 min d'incubation au bain marié à 30 C°.

L'activité scavenger d'ABTS est déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec le trolox et l'activité est exprimée en mg équivalent de trolox par 100 g de matière sèche (mg ET/100g MS). (Figure 06, Annexe I)

## **II.5. L'analyse statistique**

L'analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2010, pour déterminer les moyennes, les écarts-types et les coefficients de corrélation.

Pour parvenir à traiter les résultats obtenus, une étude statistique a été faite par l'analyse de la variance (ANOVA) en utilisant le test LSD (la plus petite différence significative à une probabilité  $p < 0,05$ ) est appliquée à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 afin de mettre en évidence les différences significatives dans les résultats pour les échantillons étudiés pour chaque paramètres.

---

*RESULTATS ET  
DISCUSSION*

---

### III. Résultats

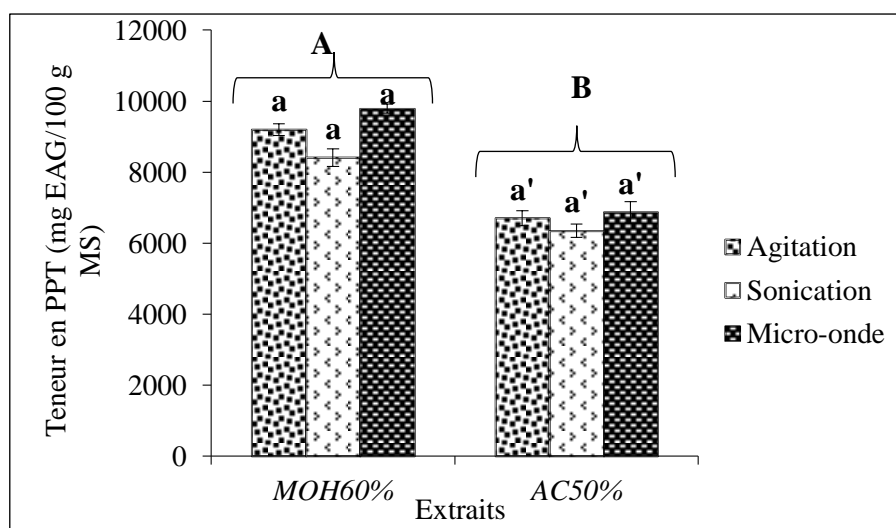
#### III.1. Dosages des antioxydants

##### III.1.1. Dosage des polyphénols totaux

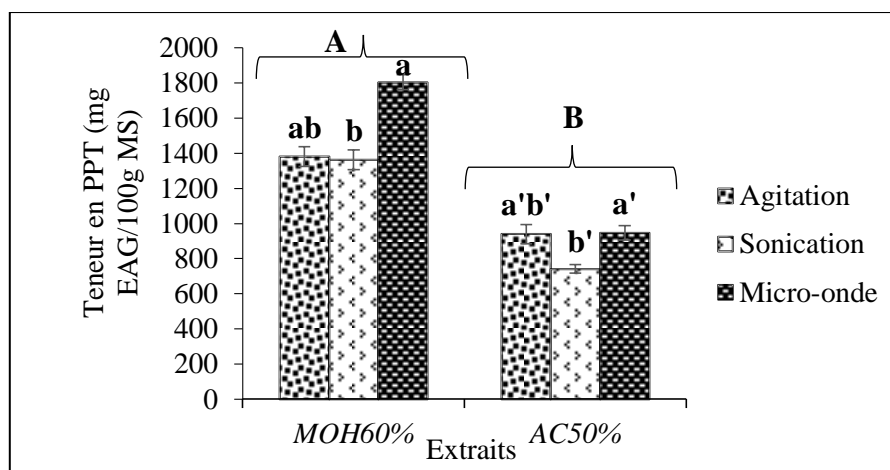
L'objectif de l'étape d'extraction des composés phénoliques à partir de la matrice végétale est de libérer ces composés à partir des structures vacuolaires, où ils se trouvent par la rupture du tissu végétal ou par le phénomène de diffusion. Les polyphénols sont des composés polaires, ils ont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

L'extraction doit être effectuée avec un solvant organique mélangé avec l'eau. Après optimisation ; le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques des feuilles et des graines de *Ziziphus jujuba* sont le méthanol 60% et l'acétone 50%, respectivement.

Les teneurs en composés phénoliques des extraits de *Ziziphus jujuba* sont représentées dans la figure 13 (a et b) :



(a)



(b)

**Figure 13:** Teneur en composés phénoliques des extraits des feuilles (a) et des graines (b) de *Ziziphus jujuba* obtenus par différentes méthodes d'extraction.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative.*

*Les lettres en minuscules indiquent la différence entre les trois méthodes ( $a > b > c$ ) pour le méthanol 60% et ( $a' > b' > c'$ ) pour l'acétone 50%.*

*Les lettres en majuscules désignent la différence entre les deux solvants ( $p < 0,05$  avec  $A > B$ ).*

*Les barres verticales représentent la moyenne  $\pm$  écart type.*

Pour les feuilles, l'analyse statistique de la teneur en polyphénols totaux révèle aucune différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Les teneurs obtenues sont : 9788,49 et 6861,95 mg EAG/100g MS (extraction assistée par microondes, EAM), 9195,35 et 6698,79 mg EAG/100g MS (extraction sous agitation, EA) et 8411,29 et 6347,84 mg EAG/100g MS (extraction assistée aux ultrasons, EAU) pour le méthanol 60% et l'acétone 50%, respectivement.

Cependant, les résultats obtenus montrent une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solvants d'extraction (méthanol 60% > acétone 50%).

Pour les graines, l'analyse statistique de la teneur en polyphénols totaux révèle une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction des extraits à méthanol 60% : l'extraction assistée par microondes présente la teneur la plus élevée (1804,02 mg EAG/100g MS), suivie de l'extraction sous agitation (1381,31 mg EAG/100g MS). Et enfin l'extraction assistée aux ultrasons (1362,83 mg EAG/100g MS).

Pour les extraits à acétone 50%, le test LSD indique une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les méthodes d'extraction qui sont l'extraction assistée par microondes (946,25 mg EAG/100g MS), l'extraction sous agitation est plus ou moins égale à l'extraction assistée

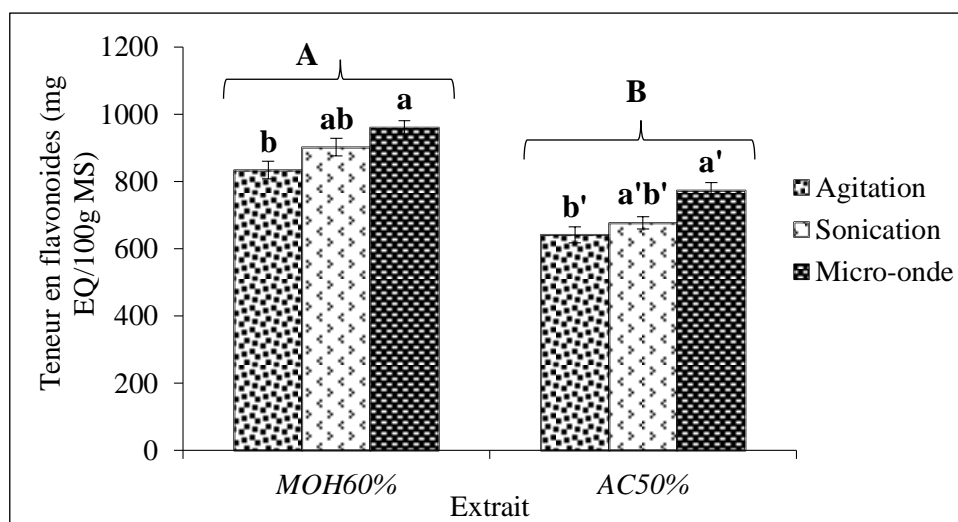
par microondes et aux ultrasons (939,68 mg EAG/100g MS) et l'extraction assistée aux ultrasons (741,84 mg EAG/100g MS).

L'analyse statistique désigne une différence significative entre les solvants d'extraction (méthanol 60% > acétone 50%).

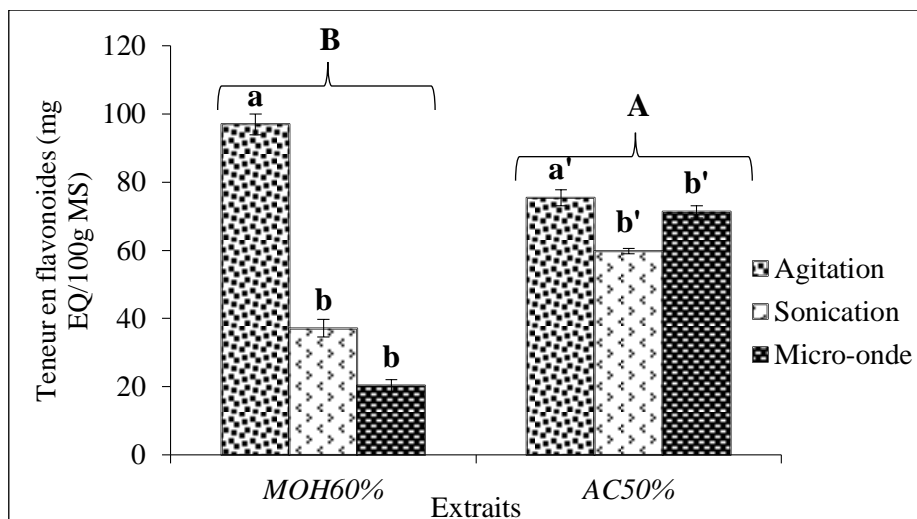
### III.1.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les constituants majoritaires des polyphénols, ils jouent un rôle de protection des tissus végétaux contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet et ils sont de puissants antioxydants *vis-à-vis* des radicaux libres, dus à leurs propriétés de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (Tournaire *et al.*, 1994).

Les teneurs en flavonoïdes des extraits de jujubier sont représentées dans la figure 14 (a et b) :



(a)



(b)

**Figure 14:** Teneurs en flavonoïdes des extraits de feuilles (a) et de graines (b) de *Ziziphus jujuba* obtenus par différentes méthodes d'extraction.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative.*

*Les lettres en minuscules indiquent la différence entre les trois méthodes ( $a > b > c$ ) pour le méthanol 60% et ( $a' > b' > c'$ ) pour l'acétone 50%.*

*Les lettres en majuscules désignent la différence entre les deux solvants ( $p < 0,05$  avec  $A > B$ ).*

*Les barres verticales représentent la moyenne  $\pm$  écart type.*

Pour les feuilles, l'analyse statistique de la teneur en flavonoïdes montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les méthodes d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Les teneurs en flavonoïdes varient de 640,36 et 833,68 mg EQ/100g MS (EA) à 772,05 et 960,52 mg EQ/100g MS (EAM), pour les extraits à acétone 50% et à méthanol 60% respectivement.

Pour les graines, l'analyse statistique de la teneur en flavonoïdes montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les méthodes d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Les teneurs en flavonoïdes varient de 20,33 mg EQ/100g MS (EAM) et 59,81 (EAU) mg EQ/100g MS à 96,96 et 75,38 mg EQ/100g MS (EA) pour les extraits à méthanol 60% et à acétone 50% respectivement.

L'analyse statistique désigne une différence significative entre les solvants d'extraction (méthanol 60%, acétone 50%).

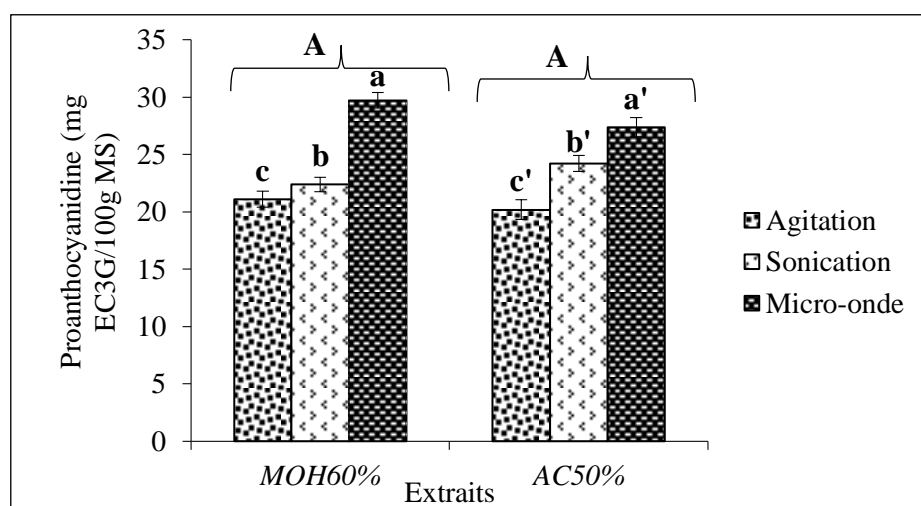


### III.1.3. Dosage des proanthocyanidines

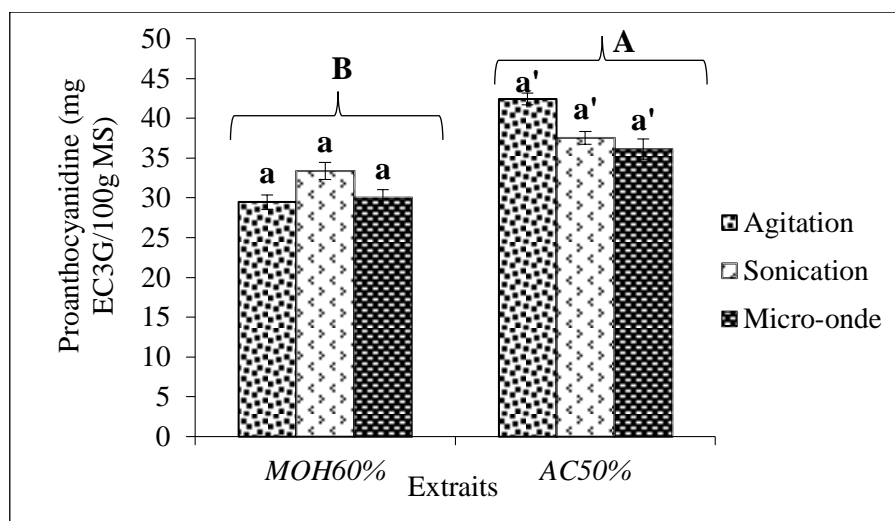
Les proanthocyanidines sont des composés biologiquement actifs, ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 des unités adjacentes ; et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de type A.

Plusieurs essais *in vivo* ont démontrés leurs propriétés anti-inflammatoires, antivirales, antibactériennes et antioxydantes. Ils peuvent également diminuer la valeur nutritive et la disponibilité biologique des protéines et des minéraux, lorsqu'ils sont présents en quantités suffisantes (Malik *et al.*, 1997).

Les résultats de la quantification des proanthocyanidines des extraits de *Z. jujua* sont illustrés dans la figure 15 (a et b) :



(a)



(b)

**Figure 15:** Teneurs en proanthocyanidines des extraits de feuilles (a) et de graines (b) de *Ziziphus jujuba* obtenus par différentes méthodes d'extraction.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative.

Les lettres en minuscules indiquent la différence entre les trois méthodes ( $a > b > c$ ) pour le méthanol 60% et ( $a' > b' > c'$ ) pour l'acétone 50%.

Les lettres en majuscules désignent la différence entre les deux solvants ( $p < 0,05$  avec  $A > B$ ).

Les barres verticales représentent la moyenne  $\pm$  écart type.

Pour les feuilles, l'analyse statistique de la teneur en proanthocyanidines révèle une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction. Les teneurs en proanthocyanidines des extraits varient de 21,09 et 20,19 mg EC3G /100g MS (EA) à 29,73 et 27,37 mg EC3G /100g MS (EAM) pour les extraits à méthanol 60% et à acétone 50%, respectivement.

L'analyse statistique ne désigne aucune différence significative entre les solvants d'extraction (méthanol 60%, acétone 50%).

Pour les graines, l'analyse statistique de la teneur en proanthocyanidines révèle aucune différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction. Les teneurs les plus élevées sont 33,38 mg EC3G /100g (EAU) et 42,45 mg EC3G /100g (EA) pour les extraits le méthanol 60% et l'acétone 50%.

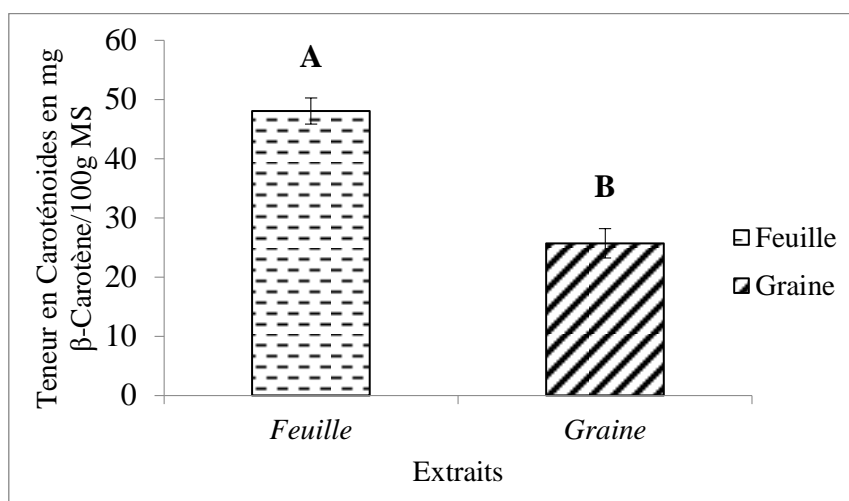
L'analyse statistique désigne une différence significative entre les solvants d'extraction (méthanol 60%, acétone 50%).

### III.1.4. Dosage des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels synthétisés par les plantes et ils sont responsables des différentes couleurs à savoir les structures chimiques qui les composent. Il existe plusieurs caroténoïdes ( $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -carotène, lutein, lycopène, etc.).  $\beta$ -carotène est le caroténoïde commun pour les fruits et végétaux et la vitamine E est l'antioxydant qui protège les cellules contre les attaques radicalaires (San *et al.*, 2010).

Les caroténoïdes sont des terpènes en C40 qui possèdent un chromophore avec au moins dix doubles liaisons, ils ont des composés insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques tel que l'acétone, etc. (Ouchemouck *et al.*, 2012). Ce sont d'excellents piègeurs d'espèces radicalaires particulièrement *vis-à-vis* la lipoperoxydation des phospholipides membranaires grâce à leurs structures.

Les teneurs en caroténoïdes des extraits de *Ziziphus jujuba* sont représentées dans la figure 16 ( a et b):



**Figure 16:** Teneurs en caroténoïdes des extraits de *Ziziphus jujuba*.

Les lettres différentes désignent les différentes teneurs ( $p < 0,05$  avec  $A > B$ );

Les barres verticales représentent la moyenne  $\pm$  écart type.

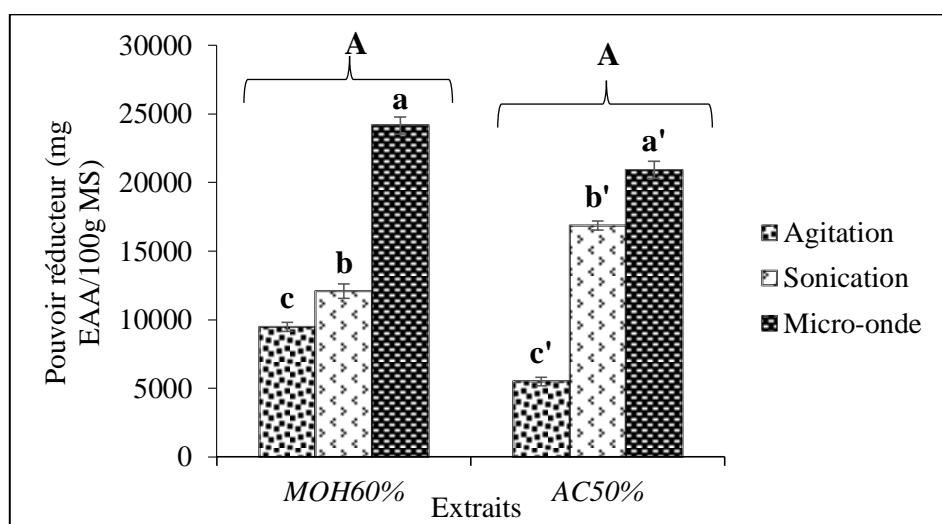
La teneur en caroténoïdes révèle une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les feuilles et les graines de *Z. jujuba*. La meilleure teneur est marquée pour la feuille par une valeur de 48,05 mg E $\beta$ -Carotène/100g MS suivi de la graine qui élucide une teneur de 25,684 mg E $\beta$ -Carotène/100g MS.

## III.2. Détermination de l'activité antioxydant et antiradicalaire

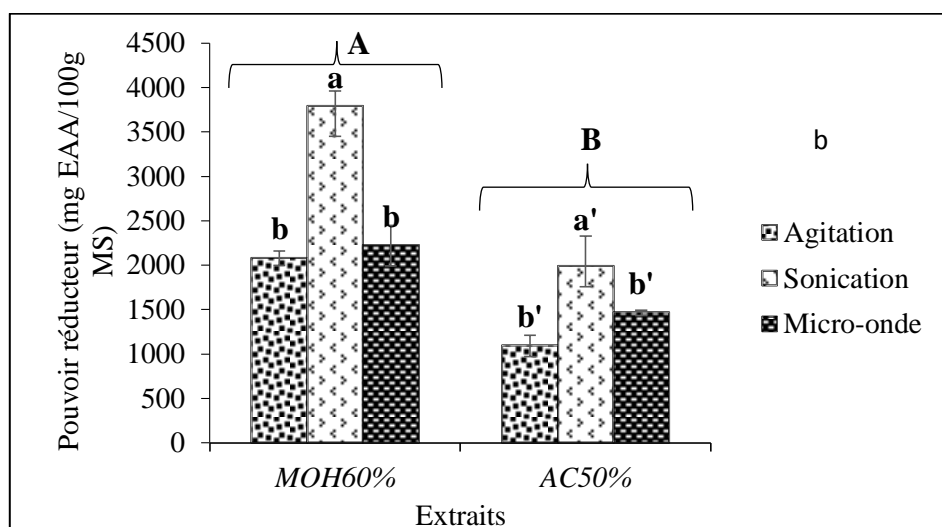
### III.2.1. Pouvoir réducteur

La capacité réductrice des composés est l'indicateur majeur de leurs potentiels activités antioxydante (Dar *et al.*, 2017). La présence des réducteurs dans les extraits favorisent la réduction du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) (Sun *et al.*, 2011).

La figure 17 (a et b) représente le pouvoir réducteur des extraits de la plante *Ziziphus jujuba* :



(a)



(b)

**Figure 17** : Pouvoir réducteur des extraits des feuilles (a) et des graines (b) de *Ziziphus jujuba* obtenus par différentes méthodes d'extraction.

*Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative.*

*Les lettres en minuscules indiquent la différence entre les trois méthodes ( $a > b > c$ ) pour le méthanol 60% et ( $a' > b' > c'$ ) pour l'acétone 50%.*

*Les lettres en majuscules désignent la différence entre les deux solvants ( $p < 0,05$  avec  $A > B$ ).*

*Les barres verticales représentent la moyenne  $\pm$  écart type.*

Pour les feuilles, l'analyse statistique de pouvoir réducteur révèle une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction des extraits à méthanol 60% : l'extraction assistée par microondes présente la teneur la plus élevée (24167,30 mg EAA/100g MS), en suite l'extraction assistée aux ultrasons (12074,78 mg EAA/100g MS). Et enfin l'extraction par macération (9480,35 mg EAA/100g MS).

Pour les extraits à acétone 50%, le test LSD désigne une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les méthodes d'extraction qui sont l'extraction assistée par microondes (20927,12 mg EAA/100g MS), suivie par l'extraction assistée aux ultrasons (16874,84 mg EAA/100g MS) et l'extraction sous agitation (5508,05 mg EAA/100g MS).

L'analyse statistique ne désigne aucune différence significative entre les solvants d'extraction (méthanol 60%, acétone 50%).

Pour les graines, l'analyse statistique de pouvoir réducteur montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction des extraits à méthanol 60% : l'extraction assistée aux ultrasons (3787,71 mg EAA/100g MS), l'extraction assistée par microondes (2220,03 mg EAA/100g MS) et l'extraction sous agitation (2078,01 mg EAA/100g MS).

Pour les extraits à acétone 50%, cette analyse indique une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les méthodes d'extraction : l'extraction assistée aux ultrasons qui présente la teneur la plus élevée (1988,17 mg EAA/100g MS), par la suite l'extraction assistée par microondes (1463,75 mg EAA/100g MS) et l'extraction par macération (1091,76 mg EAA/100g MS).

L'analyse statistique désigne une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solvants d'extraction (méthanol 60% > acétone 50%).

### III.2.2. Activité antiradicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. (Figure 18)

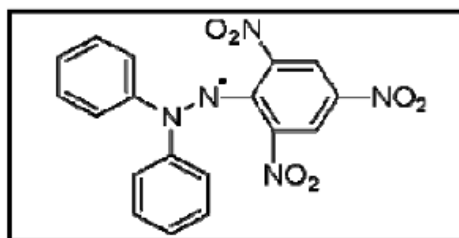


Figure 18: Structure chimique de radical libre DPPH<sup>•</sup>.

Dans le cas des composées phénoliques, la neutralisation de radical DPPH<sup>•</sup> se fait selon un mécanisme d'action qui se base sur la capture de l'atome H de DPPH<sup>•</sup> en le transformant en une molécule stable DPPHH (Andzi Barhé *et al.*, 2014). (Figure 19)

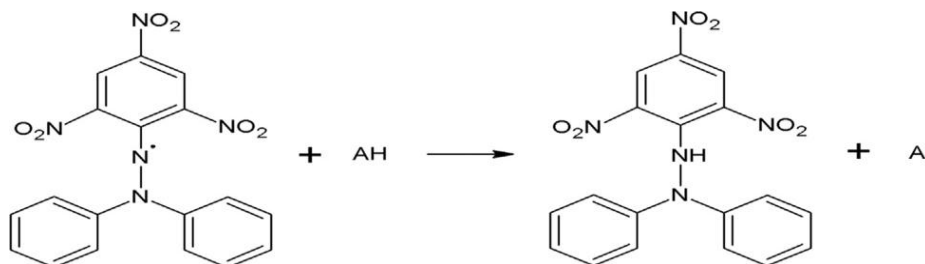
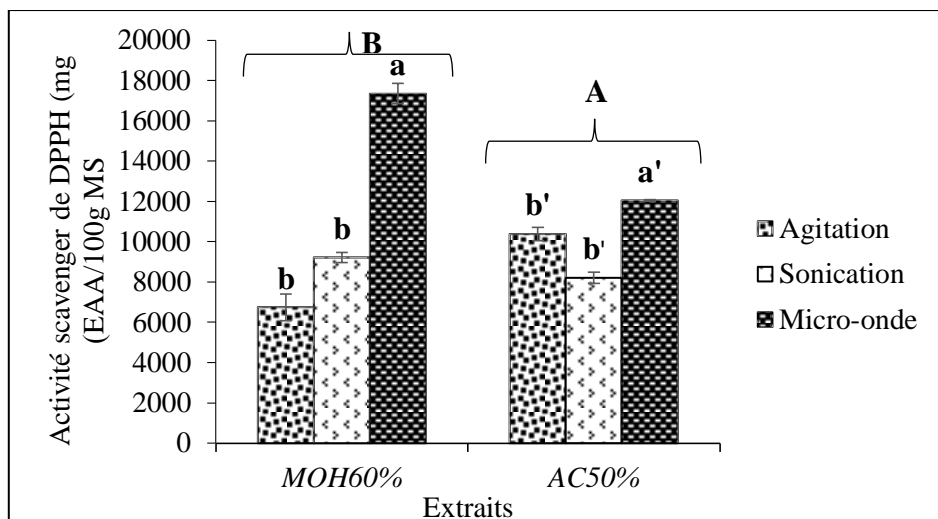
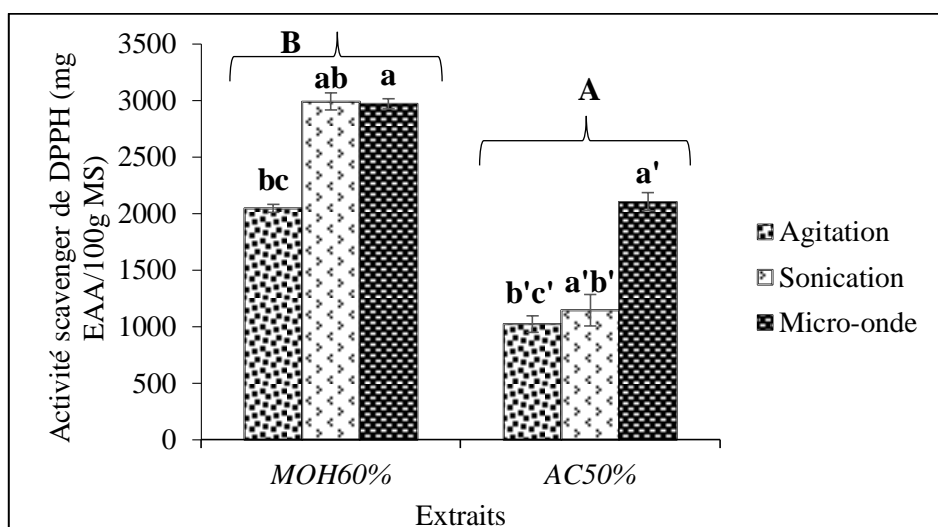


Figure 19 : Mécanisme réactionnel de la réduction du radical DPPH<sup>•</sup> (Hidayat *et al.*, 2017).

L'effet scavenger de radical DPPH par rapport aux extraits de la plante étudié est illustré dans la figure 20 (a et b) :



(a)



(b)

**Figure 20 :** Activité scavenger à l'égard de radical libre DPPH des extraits de feuilles (a) et de graines (b) de jujubier obtenus par différentes méthodes d'extraction.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative.

Les lettres en minuscules indiquent la différence entre les trois méthodes ( $a > b > c$ ) pour le méthanol 60% et ( $a' > b' > c'$ ) pour l'acétone 50%.

Les lettres en majuscules désignent la différence entre les deux solvants ( $p < 0,05$  avec  $A > B$ ).

Les barres verticales représentent la moyenne  $\pm$  écart type.

Pour les feuilles, l'analyse statistique concernant l'activité antiradicalaire de DPPH révèle une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Les teneurs obtenues sont : 17355,62 et 12048,73 mg EAA/100g MS

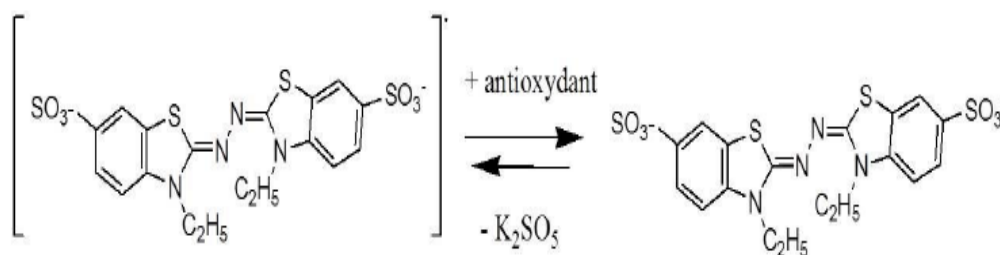
(EAM), 9222,91 et 8212,18 mg EAA/100g MS (EAU) et 6741,89 et 10373,36 mg EAA/100g MS (EA) pour le méthanol 60% et l'acétone 50% respectivement.

Pour les graines, l'étude statistique concernant l'activité antiradicalaire de DPPH montre la présence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction. Les taux de l'activité de piégeage des extraits varient de 1022,81 et 2045,55 mg EAA/100g MS (EA) à 2103,28 et 2969,43 mg EAA/100g MS (EAM) pour les extraits à acétone 50% et à méthanol 60% respectivement.

L'analyse statistique désigne une différence significative entre les solvants d'extraction (méthanol 60% < acétone 50%).

### III.2.3. Activité antiradicalaire acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS)

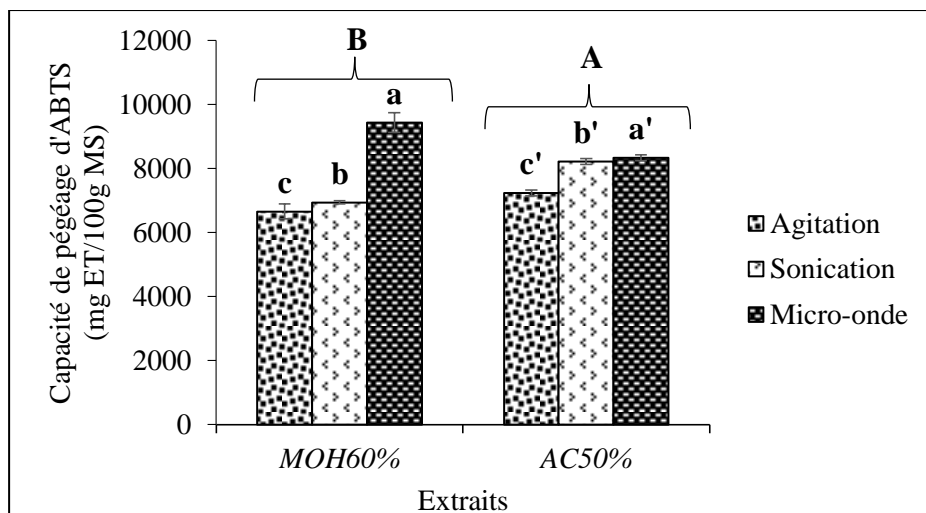
Le radical ABTS est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons. La neutralisation d'ABTS est basée sur la capacité d'oxydation de ce dernier en radical cationique ABTS<sup>+</sup> par des antioxydants (**Gao et al., 2011**) selon la réaction suivante :



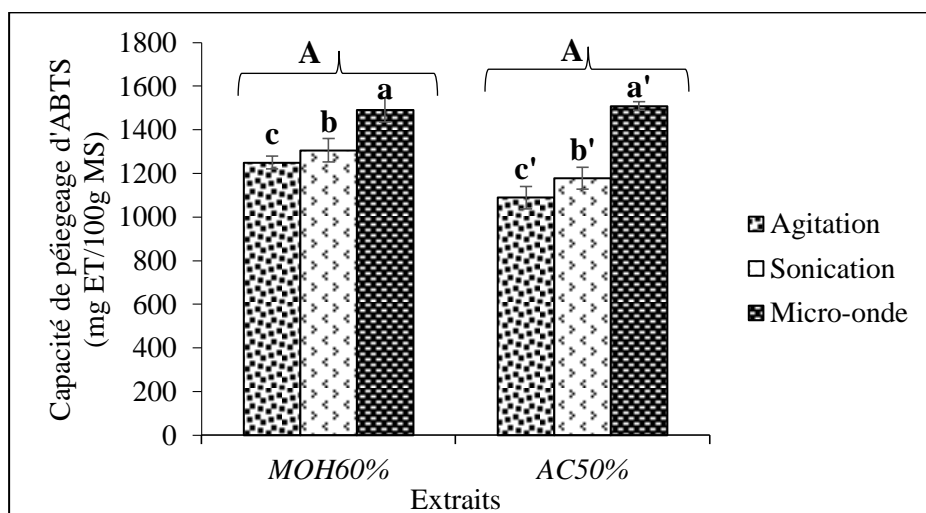
**Figure 21** : Mécanisme réactionnel de la réduction du radical ABTS (**Essalim et Serve, 1991**).

La capacité de piégeage de radical libre d'ABTS sur les extraits se récapitule dans la figure 22 (a et b) :





(a)



(b)

**Figure 22 :** Activité de piégeage d'ABTS sur les extraits de feuilles (a) et de graines (b) de jujubier obtenus par différentes méthodes d'extraction.

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative.

Les lettres en minuscules indiquent la différence entre les trois méthodes ( $a > b > c$ ) pour le méthanol 60% et ( $a' > b' > c'$ ) pour l'acétone 50%.

Les lettres en majuscules désignent la différence entre les deux solvants ( $p < 0,05$  avec  $A > B$ ).

Les barres verticales représentent la moyenne  $\pm$  écart type.

Pour les feuilles, l'étude statistique relative à la capacité de piégeage du radical ABTS indique une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les méthodes d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Les taux obtenus sont 9433,03 et 8333,03 mg ET/100g MS (EAM), 8219,62 et 6939,35 mg ET/100g MS (EAU), enfin 6655,63 et 7240,13 mg ET/100g MS (EA) pour le méthanol 60% et l'acétone 50% respectivement.

Cependant, les résultats obtenues montrent une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solvants d'extraction (méthanol 60% < acétone 50%).

Pour les graines, le test LSD relative à la capacité de piégeage de radical ABTS montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les trois méthodes d'extraction quel que soit le solvant d'extraction. Les taux obtenues sont : 221491,28 et 1508 mg ET/100g MS (EAM), 1306,40 1178,07 mg ET/100g MS (EAU) et 1249,73 et 1088,95 mg ET/100g MS (EA) pour le méthanol 60% et l'acétone 50% respectivement.

L'analyse statistique ne désigne aucune différence significative entre les solvants d'extraction (méthanol 60%, acétone 50%).

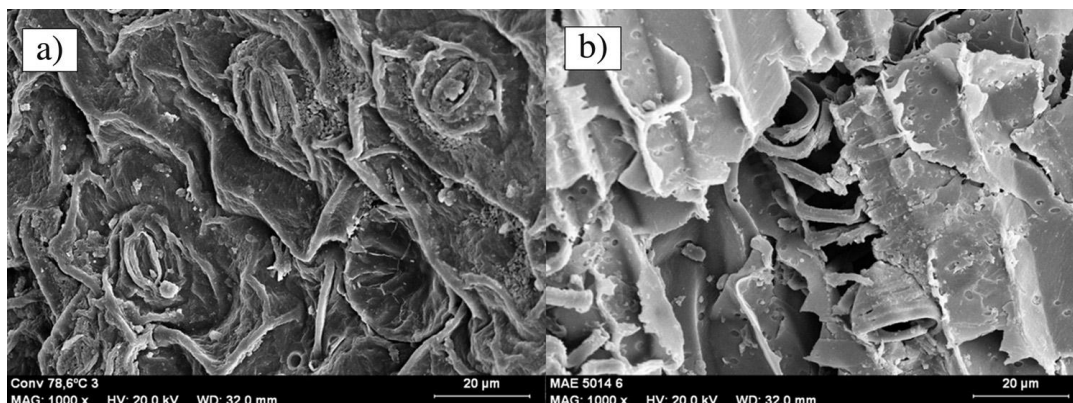
### III.3. Discussion

Les résultats de la présente étude montre que les extraits obtenus par l'extraction assistée par microondes présentent les teneurs les plus élevées en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes et proanthocyanidines), le pouvoir réducteur le plus élevé et l'activité antiradicalaire la plus élevée qu'il soit pour la feuille ou la graine et qu'il soit pour les extraits obtenus avec le méthanol 60% ou l'acétone 50%.

A l'issue des dosages effectués, il s'est avéré que l'extraction des composés phénoliques à partir de la feuille de *Z. jujuba* présente la teneur la plus remarquable en polyphénols totaux. Divers études faites par **Ouchemouck et al. (2012)** ont rapportés que l'extraction des composés phénoliques à partir de *Vitis vinifera* avec le méthanol 50% présente la teneur la plus élevé.

Le taux d'extraction par microondes des composés phénoliques est plus élevé. **Mustapa et al. (2015)** ont observés le même résultat lors d'extraction des composés phénoliques de *Clinacanthus nutans* avec cette méthode, cela est due à la diffusion des métabolites secondaires qui résulte de l'augmentation de la perméabilité. Durant l'extraction, la masse transférée s'accroît en raison de la haute capacité de pénétration suite à la destruction des cellules (**Huma et al., 2011**). Et que l'énergie d'absorption des polyphénols par le solvant avec l'extraction assistée par microondes est beaucoup plus supérieur en comparant à l'extraction sous

agitation vue de la langue durée que prend cette dernière pour atteindre l'équilibre et pour que les polyphénols seront totalement extraient (**Mustapa et al.,2015**).



**Figure 23** : Image sous microscope indiquant la différence entre le taux de destruction des structures cellulaires de la matière végétale par EA (a) et MAE (b) (**Mustapa et al., 2015**).

D'autre part, **Shi et al. (2003)** indiquent que les faibles taux en termes de polyphénols obtenue via l'extraction sous agitation reviennent à la décomposition des composants actifs pendant la longue période d'extraction.

De plus, l'étude réalisée par **Jiang et al. (2007)** désigne que les graines de jujube sont source de flavonoïdes avec un grand potentielle d'activité antioxydante.

L'extraction par microondes montre les teneurs en flavonoïdes les plus élevés. **Dahmoune et al. (2015)** ont rapportés pendant cette extraction que la structure des cellules est détruite par une soudaine élévation de la température qui apparaissent clairement en comparant à l'agitation qui n'expose pas cette destruction. Ce phénomène est due à la génération d'une pression interne entre les cellules et qui par la suite accélère la libération de la matière végétal dans la solution, ensuite la chaleur et la masse transférées se dirigent dans la même direction, de l'intérieur vers l'extérieur favorisant la meilleure solubilité d'échantillons dans la solution, contrairement aux autres techniques d'extraction qui transfèrent l'énergie de l'extérieur vers l'intérieur ce qui prolonge le temps d'extraction et empêche la solubilité d'échantillon (**Mustapa et al., 2015**).

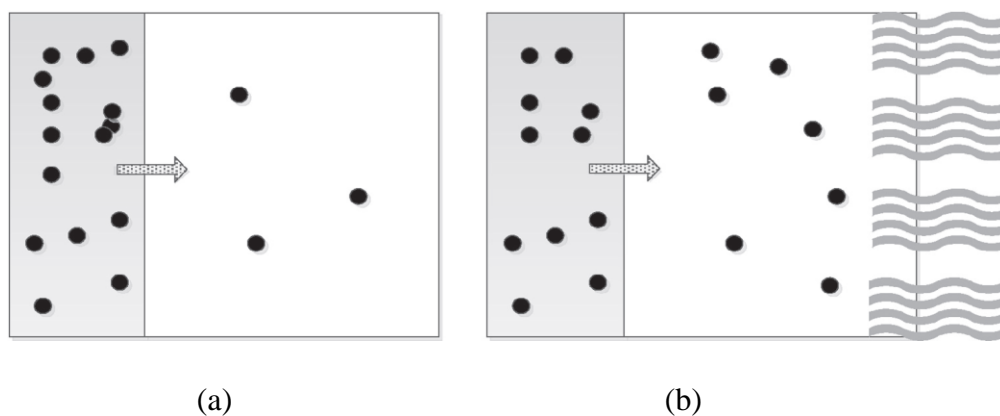
Selon **Pan et al. (2003)**, l'extraction par microondes des feuilles de thé verre présente des teneurs élevés en polyphénols. **Jain et al. (2009)** expliquent que pendant ce type d'extraction, les deux champs électriques et magnétiques agissent directement sur le tissu polaire (matière végétal), ce qui induit la conversion de l'énergie électromagnétique en

énergie cinétique et ensuite en chaleur par la rotation des dipôles, cependant la matière végétale dissipe l'énergie grâce à la migration des ions conducteurs dans le champ électrique oscillant, cette migration résulte des collisions entre la matière végétale et la chaleur générée par la charge et de la conductivité des ions ainsi que de leurs interactions avec le solvant.

D'après **Vinatoru et al. (2001)**, les feuilles de *Moringa oleifera* marquent les teneurs les plus hautes en composés phénoliques par l'extraction assistée aux ultrasons. L'augmentation de taux d'extraction assistée par ultrasons peut s'expliquer par les ondes sonores qui créent des bulles dans les liquides et produisent une pression négative. Ces bulles se gonflent puis s'éclatent, ce qui produit des jets de liquide ultrarapide (**Luque-Garcia et al., 2003**). Les ondes ultrasoniques accélèrent le transfert de masse des composés par l'augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires et facilitent la pénétration de solvant dans la matière végétale crue ou le matériel intracellulaire, ce qui conduit à une augmentation de taux d'extraction (**Gabaldon-Leyva et al., 2007**).

**Zhang et al. (2011)** ont observés que l'extraction des flavonoïdes de *prunella vulgaris L* assistée aux ultrasons donne des teneurs proches de celles obtenues par microondes. L'exposition des polyphénols aux ondes ultrasoniques pour de longue période qui dépasse 5 min et à des amplitudes élevées aboutit à la destruction structurale de la matière végétale, ce qui diminue le taux d'extraction des composants bioactives (**Rodrigues et al., 2015**). De plus, ceci augmente les réactions d'irradiation y compris la formation des radicaux libres susceptibles d'être piégés par ces polyphénols (**Jerman et al., 2010**).

Des études réalisées par **D'alessandro et al. (2012)** montrent que les teneurs d'extraction des composés phénoliques de chokeberry noir sont obtenues après 15 min d'extraction par rapport aux autres extractions due à la forte diffusion des composés dans le solvant et à la puissance des ondes ultrasonique à démolir la structure de la matière végétale, ce qui augmente ultérieurement la pénétration de solvant qui favorise la progression des taux d'extraction, contrairement à la macération (méthode conventionnel) (**Vinatoru et al., 2001**).



**Figure 24 :** Schéma démonstratif de la diffusion des composants bioactives par EA (a) et EAU (b) (Orphanides *et al.*, 2014).

**Gull *et al.* (2012)** ont observés que la variété *Sisam* de *Ceratonia siliqua* L. présente un pouvoir réducteur de  $(22.89 \pm 0.13 \text{ g EAA}/100 \text{ g DW})$ . Selon **Qu *et al.* (2013)**, l'ultrason est la meilleure méthode d'extraction par rapport à l'extraction assistée par microondes. Cela est dû à une destruction dramatique des structures actives d'échantillon car ce dernier n'a pas pu supporter les puissances élevées de microondes.

**Ma *et al.* (2008)** ont aussi rapportés que l'écorce de *Citrus* présente une forte capacité de piégeage contre le radicale libre DPPH. Cette évolution d'activité antiradicalaire revient au bon contact entre le solvant et l'échantillon qui permet la meilleure diffusion des composants bioactives (**Ghafoor et Choi, 2009**).

La feuille et le fruit de *Z. jujuba* présentent un potentiel élevé dans la neutralisation de radicale libre DPPH (**Al-Reza *et al.*, 2009**).

**Hayat *et al.* (2010)** ont rapportés l'efficacité du méthanol 66% pour libérer et séparer les polyphénols des écorces de mandarine. **Dent *et al.* (2013)** explique l'habilité du méthanol à être un bon solvant d'extraction par la différence de polarité qui existe entre lui et les composants bioactives.

Les grandes teneurs de polyphénols des extraits de graines du *Z. jujuba* sont obtenues avec l'acétone 50%. Des résultats similaires ont été obtenus par **Chaalal *et al.* (2012)** qui ont observés que l'acétone 50% permet l'extraction la plus élevée des composés phénoliques à partir des graines de figue de barbarie.

En outre, **Benchikhe et Louaileche, (2014)** ont remarqués que l'acétone 70% est le meilleur solvant d'extraction des polyphénols de la pulpe de caroube et pour la graine de poire piquant. Cela explique que le mélange entre l'eau et l'acétone est plus reproductible que l'acétone pure. Ce résultat est confirmé par le principe de « like dissolves like » qui dit que chaque solvant ne peut extraire que les composants ayant la même polarité (**Zhang et al., 2007**).

**Bachir bey et al. (2013)** ont rapportés que *Ficus carica* L. exprime une grande capacité antioxydante avec l'acétone 80% donnant des valeurs de l'ordre de 60.69 et 65.75 mg EAG/100g MS.

**Custodio et al. (2011)** ont démontrés que le méthanol est le meilleur solvant de la fleur germinale de caroube, ils ont obtenues des teneurs en polyphénols qui varient de  $19,8 \pm 0,6$  à  $32,9 \pm 0,9$  mg EAG/g MS plus élevées que celle obtenue avec l'acétone  $9,28 \pm 0,61$  mg EAG/g MS.

**Pinelo et al. (2005)** ont montrés que la grande concentration en polyphénols et la meilleure capacité antiradicalaire sont obtenues quand le solvant domine que l'échantillon dans le mélange. Selon **Luthria et al. (2012)**, la mauvaise interaction entre le solvant et l'échantillon mène à la diminution de la solubilité des composants dans le solvant d'extraction.

La différence de capacité antioxydante entre la feuille et la graine est due à la diversité des constituants qui les composent (polyphénols, flavonoïdes, composants aromatiques...), cette plante est considérée comme une bonne source de métabolites secondaires qui sont utilisée autant que naturel antioxydants contre les radicaux libres, ces derniers abiment la santé humaine.

---

# *CONCLUSION*

---

L'objectif primordial assigné par cette étude vise la mise au point d'un procédé d'extraction d'antioxydants à partir d'une source naturelle *Ziziphus jujuba* par diverses techniques extractives (extraction assistée par microondes, l'extraction assistée aux ultrasons et l'extraction par macération) et avec deux différent solvants (méthanol 60% et acétone 50%).

La teneur la plus élevée des composés phénoliques des extraits de *Z. jujuba* est constatée dans le méthanol 60% et l'acétone 50% avec l'extraction assistée par microondes qui sont de l'ordre de 9788,49 et 6861,95 mg EAG/100g MS pour la feuille et 1804,02 et 946,25 mg EAG/100g MS pour la graine.

Cette étude montre que la teneur la plus grande en flavonoïdes pour la feuille est estimée avec le méthanol 60% et l'acétone 50% avec l'extraction assistée par microondes qui sont de l'ordre de 960,52 et 772,05 mg EQ/100g MS respectivement. Concernant la graine avec méthanol 60% et l'acétone 50%, l'extraction par macération présente la teneur la plus élevé : 96,96 et 75,38 mg EQ/100g MS respectivement.

Les résultats de cette étude montrent également que la teneur la plus signifiante en proanthocyanidines pour la feuille est détectée avec le méthanol 60% et l'acétone 50% par l'extraction assistée par microondes de l'ordre de 29,73 et 27,37 mg EC3G/100g MS respectivement. Par ailleurs, pour la graine la teneur la plus élevée avec le méthanol 60% est marquée dans l'extraction assistée aux ultrasons : 33,38 mg EC3G/100g MS, et avec l'acétone 50% est désignée dans l'extraction par macération : 42,45 mg EC3G/100g MS.

L'étude actuelle indique que la plus forte teneur en caroténoïdes est désignée par la feuille de la plante étudiée de l'ordre de 48,05 mg E $\beta$ -Carotène/100g MS.

A propos de l'activité antioxydante, la meilleure capacité de réduction de fer pour la feuille avec les deux solvants d'extraction qui sont le méthanol 60% : (24167,30 mg EAA/100g MS) et l'acétone 50% (20927,12 mg EAA/100g MS) obtenue par l'extraction assistée par microondes. Cependant, la graine présente une forte capacité réductrice avec les solvants d'extraction (méthanol 60% et acétone 50%) par l'extraction assistée aux ultrasons de l'ordre de 3787,71 et 1988,17 mg EAA/100g MS respectivement.

L'activité antiradicalaire *vis-à-vis* le DPPH<sup>+</sup> et l'ABTS<sup>+</sup>, des extraits de *Z. jujuba* avec le méthanol 60% et l'acétone 50% respectivement révèle des taux élevés avec l'extraction assisté par microondes qui ont marqués des valeurs de 17353,62 et 12048,64 mg EAA/100g MS pour la feuille et 2969,43 et 2103,28 mg EAA/100g MS pour la graine relative



au DPPH<sup>•+</sup> et pour ce qui concerne l'ABTS<sup>•+</sup>, les valeurs obtenues sont 9433,03 et 8333,03 mg ET/100g MS pour la feuille et 1491,28 et 1508,22 mg ET/100g MS pour la graine.

D'après les résultats de notre travail, on a constaté que l'extraction assistée par microondes est la meilleure méthode d'extraction des extraits de la plante étudiée.

La feuille de cette plante est riche en polyphénols, elle présente une bonne activité antioxydante par une capacité de piégeage des radicaux libres et la réduction de fer par rapport à la graine.

A la lumière de cette investigation, notre perspective d'avenir est de compléter la présente étude par :

- ✓ L'utilisation d'autres nouvelles techniques d'extraction pour maximiser les antioxydants des extraits ;
- ✓ L'étude de l'activité antimicrobienne de cette plante ;
- ✓ La réalisation des tests *in vivo* pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante de *Z. jujuba* ;
- ✓ L'isolement en particulier les polyphénols et les métabolites secondaires par des méthodes performantes HPLC/MS et RMN.

---

*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

---

### -A-

- **Acosta-Estrada B.A., Gutierrez-Uribe J.A. et Serna-Saldivar S.O. (2014).** Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*. 152: 46-55.
- **Akhter Ch., Dar G.H. et Khuroo A.A. (2013).** *Ziziphus jujuba* Mill. subsp. *spinosa* (Bunge) Peng, Li & Li : a new plant record for the Indian Subcontinent. *Taiwania*. 58(2): 132-135.
- **Al-Reza S.M., Bajpai V.K. et Kang S.C. (2009).** Antioxidant and antilisterial effect of essential oil and organic extracts from *Zizyphus jujube*. *Food Chemistry Toxicology*. 47: 2374-2380.
- **Alupului A., Calinescu I., Lavric V. (2009).** Ultrasonic vs. microwave extraction intensification of active principles from medicinal plants. *Conference Series*. 9.
- **Al-Saeedi A.H, Al- Ghafri M.T.H. et Hossain M.A. (2016).** Comparative evaluation of total phenols, flavonoids content and antioxidant potential of leaf and fruit extracts of Omani *Ziziphus jujuba* L. *Natural Science and Engineering*. 18: 78-83.
- **Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N. et Omar A.K.M. (2013).** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 117: 426-436.

### -B-

- **Bâa A., Guissoub T., Duponnoisc R., Plenchetted C., Sackoe O., Sidibéf D., Syllag K. et Windoug B. (2001).** Mycorrhization contrôlée et fertilisation phosphatée: Applications à la domestication du jujubier. *Article de synthèse*. 56: 261-269.
- **Bachir Bey 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 Biotechnology*.
- **Baghdikian B., Filly A., Fabiano-Tixier A-S., Petitcolas E., Mabrouki F., Chemat F. et Ollivier E. (2016).** Extraction by solvent using microwave and ultrasound-assisted techniques followed by HPLC analysis of Harpagoside from

- Harpagophytum procumbens* and comparison with conventional solvent extraction methods. *Comptes Rendus Chimie*. 19: 692-698.
- **Bashi D.S., Mortazavi S.A., Rezaei K., Rajaei A. et Karimkhani M.M. (2012).** Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from yarrow (*Achillea beibrestinii*) by response surface methodology. *Food Science Biotechnology*. 21(4): 1005-1011.
  - **Bazílio Omena C.M., Valentim I.B., Guedes G.S., Rabelo L.A., Mano C.M., Henriques Bechara E.J., Sawaya A.C.H.F., Salles Trevisan M.T., Costa J.G., Silva Ferreira R.C., Goulart Sant'Ana A.E. et Fonseca Goulart M.O. (2012).** Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. *Food Research International*. 49: 334-344.
  - **Benahmed Djilali A., Nabiev M., Allaf K. et Benamara S. (2015).** Évaluation de certaines propriétés biochimiques et pharmacodynamiques des poudres du jujube séché à air chaud et en dic. *Sciences et les Technologies du Séchage*.
  - **Benchikh Y. et Louailèche H. (2014).** Effects of extraction conditions on the recovery of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp. *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*. 161(2) : 175-181.
  - **Bougandoura N. et Bendimerad N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Nature and Technologie*. 09 :14-19.
  - **Bourkhiss M., Hnach M., Paolini J., Costa J., Farah A. et Satrani B. (2010).** Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *tetraclinis articulata* (vahl) masters du maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 79: 141-154.
  - **Boizot N. et Charpentier J-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

-C-

- **Chaalal M., Touati N. et Louailleche H. (2012).** Extraction of phenolic compounds and in vitro antioxidant capacity of prickly pear seeds. *Acta Botanica Gallica*. 159: 467-475.

- **Custódio L., Escapa A.L., Fernandes E., Fajardo A., Aligué R., Alberício F., Neng N., Nogueira J.M.F. et Romano A. (2011).** Phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic activities of the Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) germ flour extracts. *Plant Foods Human Nutritional*. 66: 78-84.

### -D-

- **Dahmoune F., Nayak B., Moussi K., Remini H. et Madani K. (2015).** Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. *Leaves Food Chemistry*. 166: 585-595.
- **D'Alessandro L.G., Kriaa K., Nikov I. et Dimitrov K. (2012).** Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry, *Sep. Purification Technology*. 93: 42-47.
- **Dar R.A., Brahman P.K., Khurana N., Wagay J.A., Lone Z.A., Ganaie M.A. et Pitre K.S. (2017).** Evaluation of antioxidant activity of crocin, podophyllotoxin and kaempferol by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Arabian Journal of Chemistry*. 10: 1119-1128.
- **Dent M., Dragovic-Uzelac, V Penic M., Brnic M., Bosiljkov T. et Levaj B. (2013).** The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extract. *Food technology Biotechnological*. 51: 84-91.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97: 654-660.
- **Dupont F. et Guignard J.L. (2012).** Botanique, les familles de plantes. *Elsevier*. 136.

### -E-

- **El Hachimi F., El Antari A., Boujnah M., Bendrisse A. et Alfaiz C. (2015).** Comparison of oils seed and fatty acid content of various Moroccan populations of jujube, grenadier and prickly pear. *J. Mater. Environ. Sci*. 6 (5) :1488-1502.
- **Essalim A et Serve D. (1992).** Etude électrochimique et spectrophotométrique des complexes d'inclusion du diazino-2,2' bis (ethyl-3 sulfonate-6 benzothiazole) avec les cyclodextrines en milieu aqueux. *Electrochimica Acta*. 37(1): 149-157.

-G-

- **Gabaldon-Leyva CA., Quintero-Ramos A., Barnard J., Balandran-Quintana RR., Talamas-Abbud R. et Jimenez-Castro J. (2007).** Effect of ultrasound on the mass transfer and physical changes in brine bell pepper at different temperatures. *Journal Food Engineering*. 81: 374-379.
- **Ganachari M. S., Kumar Sh. et Bhat K.G. (2004).** Effect of *Ziziphus jujuba* leaves extract on phagocytosis by human neutrophils. *Journal of Natural Remedies*. 4(1): 47-51.
- **Gao Q-H., Wu P-T., Liu J-R., Wu Ch-S., Parry J.W. et Wang M. (2011).** Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) cultivars grown in loess plateau of China. *Scientia Horticulturae*. 130: 67-72.
- **Ghafoor K., Choi Y.H., Jeon J.Y. et Jo I.H. (2009).** Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (11): 4988-4994.
- **Goetz P. (2009).** Mise en évidence d'un effet psychotrope de la teinture mère de *Zizyphus jujuba* Mill. *Phytothérapie*. 7: 31-36.
- **Gourari S., Roussy G., Thiebaut J. M. et Zoulalian A. (1992).** Etude d'une réaction catalytique en présence d'un rayonnement microonde. *The Chemical Engineering Journal*. 49: 79-88.
- **Gourguillon L., Destandau E., Lobstein A. et Lesellier E. (2016).** Comparison of different ways to extract dicaffeoylquinic acids from a halophytic plant. *Chemical R Chimie*. 19: 1133-1141.
- **Gull J., Sultana B., Anwar F., Naseer R., Ashraf M. et Ashrafuzzaman M. (2012).** Variation in antioxidant attributes at three ripening stages of guava (*Psidium guajava* L.) fruit from different geographical regions of Pakistan. *Molecules*. 17: 3165-3180.
- **Guo Sh., Duan J., Tang Y., Qian Y., Zhao J., Qian D., Su Sh. et Shang E. (2011).** Simultaneous qualitative and quantitative analysis of triterpenic acids, saponins and flavonoids in the leaves of two *Ziziphus* species by HPLC–PDA–MS/ELSD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 56: 264-270.

### -H-

- **Hamedi S., Arian A.A. et Farzaei M.H. (2015).** Gastroprotective effect of aqueous stem bark extract of *Ziziphus jujuba* L. against HCl/Ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 35(6): 666-670.
- **Hayat K., Zhang X., Farooq U., Abbas S., Xia S. et Jia C. (2010).** Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. *Food Chemistry*. 123(2): 423-429.
- **Huma Z., Abert Vian M., Elmaataoui M., Dankgles O. et Chemat F. (2011).** A remarkable influence of microwave extraction: Enhancement of antioxidant activity of extracted onion varieties. *Food Chemistry*. 127: 1472-1480.
- **Hidayat M.A., Fitri A. et Kuswandi B. (2017).** Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta Pharmaceutica Sinica B*.

### -J-

- **Jain T. (2009).** Microwave assisted extraction for phytoconstituents – an overview. *Asian Journal of Research in Chemistry*. 2 (1): 19-25.
- **Jerman T., Trebse P. et Mozetic Vodopivec B. (2010).** Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chemistry*. 123: 175-182.
- **Jiang J.G., Huang X.J., Chen J. et Lin Q.S. (2007).** Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins, and polysaccharides extracted from Semen *Ziziphus jujube*. *Nat. Prod. Res.* 21: 310-320.

### -K-

- **Konkon N.G., Simaga D., Adjoungova A.L., N'Guessan K.E., Zirihi C.N. et Koné B.D. (2006).** Etude phytochimique de mitragyna inermis (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* 14 : 73-80.

-L-

- **Laamouri A. (2009).** Contribution à l'étude des jujubiers en Tunisie : Identification, caractérisation, adaptation au déficit hydrique et multiplication, ph. D. *National Agronomic Institute*. Tunisia.
- **Laamouri A., Ammari Y., Albouchi A., Sghaier T., Mguis K. et Akrimi N. (2008).** Comparative study of the root system growth and development of three Tunisian jujube species. *Geography Ecology Tropical*. 32: 37-46.
- **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.
- **Li J-W., Ding Sh-d. et Ding X-l. (2007).** Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. Jinsixiaozao. *Journal of Food Engineering*. 80: 176-183.
- **Liao L., Won T.H., Kang S.S. et Shin J. (2012).** Simultaneous analysis of bioactive metabolites from *Zizyphus jujuba* by HPLC-DAD-ELSD-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical Investigation*. 42: 21-31.
- **Lillian B., Soraia F., Paula B., Cristina F., Miguel V.B. et Isabel Ferreira C.F.R. (2008).** *Food Chemistry*. 111: 61-66.
- **Luque-Garcia JL. et Luque de Castro MD. (2003).** Ultrasound: A powerful tool for leaching. *Trends Analytic Chemistry*. 22: 41-47.
- **Luthria D.L. (2012).** Optimization of extraction of phenolic acids from a vegetable waste product using a pressurized liquid extractor. *Journal of Functional Foods*. 4: 842-850.

-M-

- **Ma Al-F. et Cy L. (2008).** Optimization of phenolics and dietary fiber extraction from date seeds. *Food Chemistry*. 108: 977-985.
- **Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature and Technologie*. 09: 35-40.
- **Maksimovic Z., Malencic D. et Bioresource N.K. (2005).** Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. *Technology*. 96: 873-877.



- **Malik A., Kuliev Z.A., Akhmedov Y.A., Vdovin A.D. et Abdnllaev N.D. (1997).** Proanthocyanidins of *Ziziphus jujuba*. *Chemistry of Natural Compounds*. 33(2).
- **Mason T.J. et Cintas P. (2002).** Sonochemistry. Handbook of Green Chemistry and Technology. *Edition Blackwell science Ltd*: 372-396.
- **Memona A.A., Memona N., Bhangar M.I., Luthria D.L. (2013).** Assay of phenolic compounds from four species of ber (*Ziziphus mauritiana* L.) fruits: Comparison of three base hydrolysis procedure for quantification of total phenolic acids. *Food Chemistry*. 139: 496-502.
- **Munier P. (1973).** Le jujubier et sa culture. *Fruits*. 28(5): 377-388.
- **Mustapa A.N., Martin A., Gallego J.R., Mato R.B. et Cocero M.J. (2015).** Microwave-assisted extraction of polyphenols from *Clinacanthus nutans* Lindau medicinal plant: Energy perspective and kinetics modeling. *Chemical Engineering and Processing*. 97: 66-74.

-O-

- **Oroian M. et Escriche I. (2015).** Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Esearch International*. 74: 10-36.
- **Orphanides A., Goulas V. et Gekas V. (2014).** Introducing the concept of sonochemical potential: A phenomenological model for ultrasound assisted extraction. *Journal of Food Engineering*. 120: 191-196.
- **Ouchemoukh S., Hachoud S., Boudraham H., Mokrani A. et Louaileche H. (2012).** Antioxidant activities of some dried fruits consumed in Algeria. *Food Science and Technology*. 49: 329-332.
- **Oyaizu M. (1986).** Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japn. J. Nutri.* 44: 307-315.

-P-

- **Pan X., Niu G. et Liu H. (2003).** Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves, *Chem. Eng. Process. Proc. Intens.* 42:129-133.
- **Pélagie Y., Alexis T., Koudoro Y., Agbangnan P., Ndahischimiye V., Sébastien D.T., Wotto D., Azandégbé E.C. et Sohounhloue D. (2015).** Comparative study of

- phenolic compounds and radical scavenging activity of the extracts of seeds of *Garcinia kola* (Guttiferae) and *Cucumeropsis edulis* (Cucurbitaceae) of Benin. *International Journal of Innovation and Scientific Research*. 15(1): 217-227.
- **Peng W-H., Hsieh M-T., Lee Y-Sh., Lin Y-Ch. Et Liao J. (2000).** Anxiolytic effect of seed of *Ziziphus jujuba* in mouse models of anxiety. *Journal of Ethnopharmacology*. 72: 435-441.
  - **Pericin D., Krimer V., Trivic S. et Radulovic L. (2009).** The distribution of phenolic acids in pumpkins hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. *Food Chemistry*. 113(2): 450-456.
  - **Pinelo M., Rubilar M., Jerez M., Sineiro J. et Núñez M.J. (2005).** Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 2111-2117.
  - **Preeti et Tripathi Sh. (2014).** *Ziziphus jujube*: A phytopharmacological review. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*. 3(3): 959-966.
  - **Prommajak T., Surawang S. et Rattanapanone N. (2014).** Ultrasonic-assisted extraction of phenolic and antioxidative compounds from lizard tail (*Houttuynia cordata* Thunb.). *Songklanakarin J. Science Technology*. 36 (1): 65-72.

### -Q-

- **Qu Ch., Yu S., Luo L., Zhao Y. et Huang Y. (2013).** Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* Mill. by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*. 7:160.

### -R-

- **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang m. et Rice-evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231-1237.
- **Rodrigues S., Fernandes F.A.N., Brito E.S., Sousa A.D. et Narain N. (2015).** Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jabuticaba peel. *Ind.Crops Prod*. 69: 400-407.

- **Rodríguez-Pérez C., Quirantes-Piné R., Fernández-Gutiérrez A. et Segura-Carretero A. (2015).** Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*. 66: 246-254.

-S-

- **Safdar M.N., Kausar T., Jabbar S., Mumtaz A., Ahad K., Saddozai A.A. (2016).** Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *Journal of Food and Drug Analysis*: 1-13.
- **Sahin S., Aybastier O., Isık E. (2013).** Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from *Artemisia absinthium* using response surface methodology. *Food Chemistry*. 141: 1361-1368.
- **San B. et Yildirim A.N. (2010).** Phenolic, 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.
- **Shi J., Yu J., Pohorly J., Young C., Bryan M. et Wu Y. (2003).** Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *Journal Food Agricultural Environnement*. 1: 42-47.
- **Shirsath S.R., Sonawane S.H. et Gogate P.R. (2012).** Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations\_A review of current status. *Chemical Engineering and Processing*. 53: 10-23.
- **Sigoillot M., Laffitte A., Neiers F. et Briand L. (2015).** Sweet taste inhibitors : Therapeutic projects. *Cahiers de nutrition et de diététique*.
- **Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*. 16: 144-158.
- **Sparr Eskilsson C. et Bjorklund E. (2000).** Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*. 902(1): 227-250.
- **Sroka Z. et Cisowski W. (2003).** Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*. 41: 753-758.

- **Subramanian R., Subbramaniyan P., Noorul Ameen J., Raj V. (2016).** Double bypasses soxhlet apparatus for extraction of piperine from piper nigrum. *Arabian Journal of Chemistry*. 9: S537-S540.
- **Sun Y-F., Liang Z-S., Shan Ch-J., Viernstein H. et Unger F. (2011).** Comprehensive evaluation of natural antioxidants and antioxidant potentials in *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou fruits based on geographical origin by TOPSIS method. *Food Chemistry*. 124: 1612-1619.

-T-

- **Taniguchi H., Henke N.A., Heider S.A.E. et Wendisch V.F. (2017).** Overexpression of the primary sigma factor gene sig A improved carotenoid production by *Corynebacterium glutamicum* : Application to production of  $\beta$ -carotene and the non-native linear C50 carotenoid bisanhydrobacterioruberin. *Metabolic Engineering Communications*. 4: 1-11.
- **Teng H., Lee W.Y. et Choi Y.H. (2014).** Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols, anthocyanins, and antioxidants from raspberry (*Rubus coreanus* Miq.) Using response surface methodology. *Food Analytic Methods*. 7: 1536-1545.
- **Tournaire C., Hocquaux M., Beck I., Oliveros E. et Maurette M-Th. (1994).** Avtivité anti-oxydante de flavonoïdes réactivité avec le superoxyde de potassium en phase hétérogène. *Tetrahedron*. 50(31): 9303-9314.

-V-

- **Vinatoru M. (2001).** An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason. Sonochemistry*. 8 : 303-313.
- **Vivas N., Nonier M.F., Pianet I., Gaulejac N.V., Fouquet É. (2006).** Proanthocyanidins from *Quercus petraea* and *Q. robur* heartwood: quantification and structures. *Comptes Rendu Chimie*. 9: 120-126.

### -W-

- **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 Biotechnology*. 22(3): 639-644.
- **Wang X., Yang B., Zhang A., Sun H. et Yan G. (2012).** Potential drug targets on insomnia and intervention effects of Jujuboside A through metabolic pathway analysis as revealed by UPLC/ESI-SYNAPT-HDMS coupled with pattern recognition approach. *Journal of Proteomics*. 75: 1411-1427.
- **Wollinger A., Perrin E., Chahboun J., Jeannot V., Touraud D. et Kunz W. (2016).** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendu Chimie*.19: 754-765.

### -Y-

- **Yang B., Yang H., Chen F, Hua Y. et Jiang Y. (2013).** Phytochemical analyses of *Ziziphus jujuba* Mill. var. spinosa seed by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. *The Royal Society of Chemistry*. 138 : 688-6888.

### -Z-

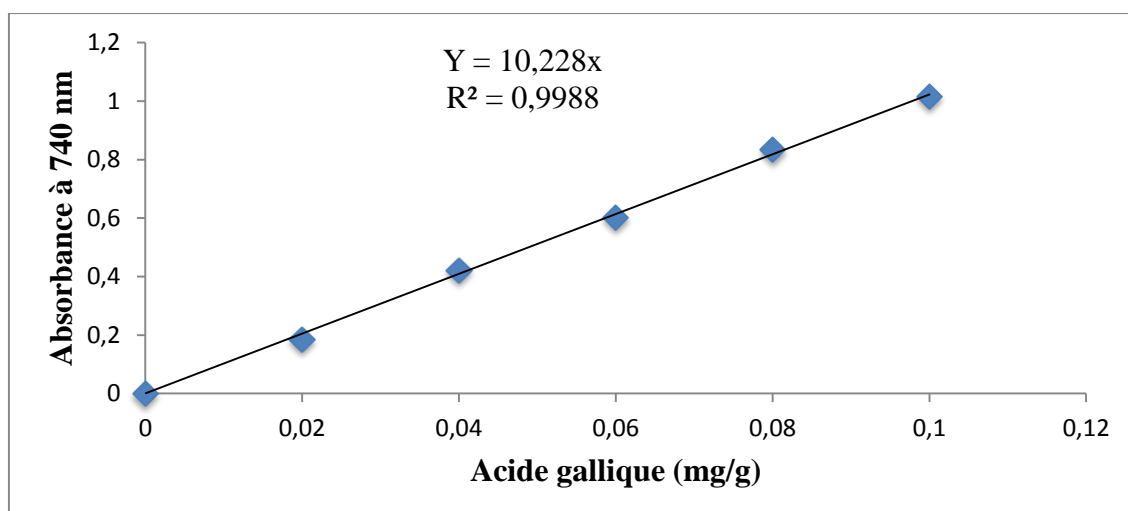
- **Zamora G.S., Yahia E.M., Brecht J.K. et Gardea A. (2005).** Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *Food Science and Technology*. 38: 657-663.
- **Zhang L., Fu Q. et Zhang, Y. (2011).** Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity. *Food Chemistry*. 127(4): 1444-1449.
- **Zhang SJ., Chen ZX., Lin YW., Cheng YH., Liu SL. et Wang CJ. (2007).** Clinical observation of modified Suan Zao Ren decoction on insomnia of chronic hepatitis B patients. *Zhong Yao Cai*. 27: 5-303.



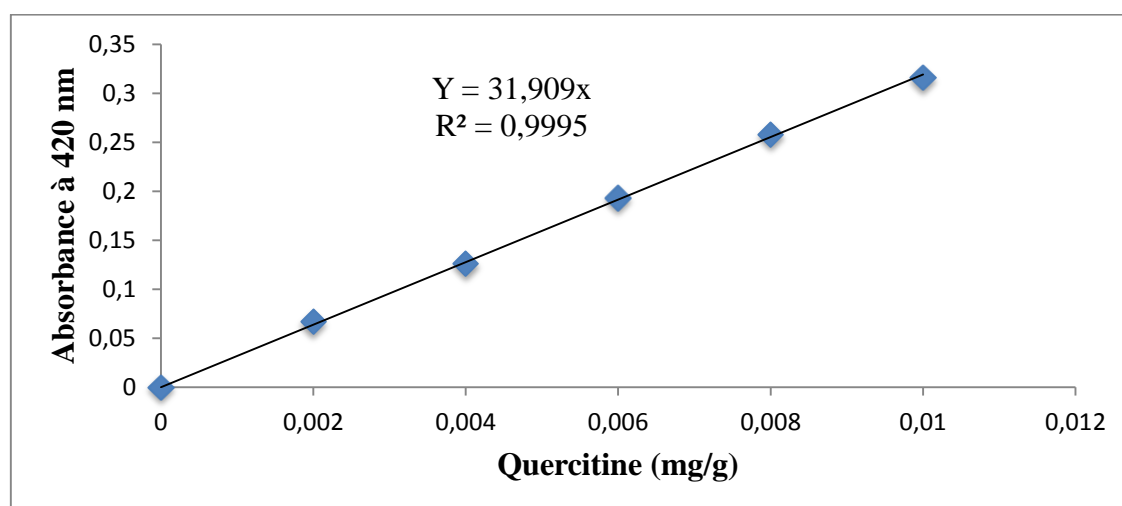
---

# *ANNEXES*

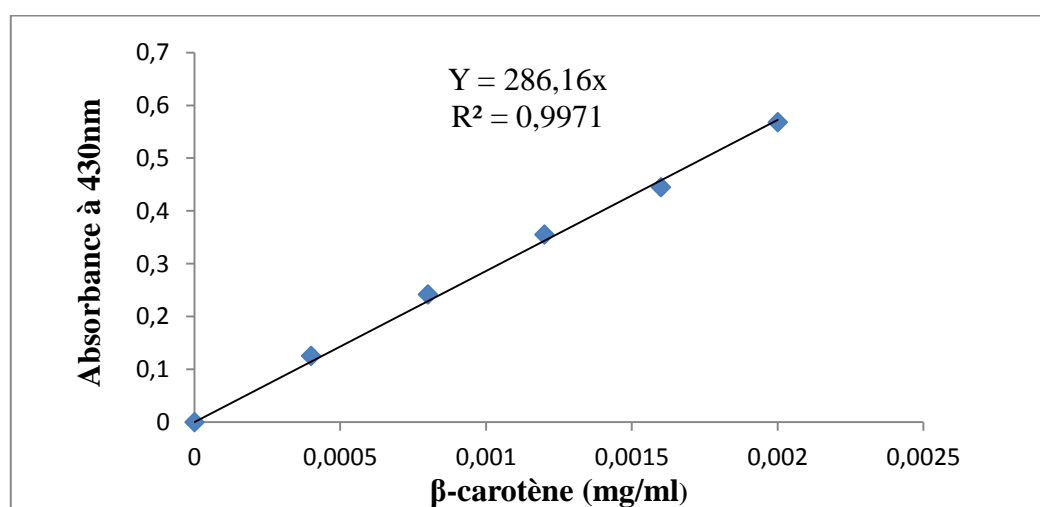
---



**Figure 01 :** Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

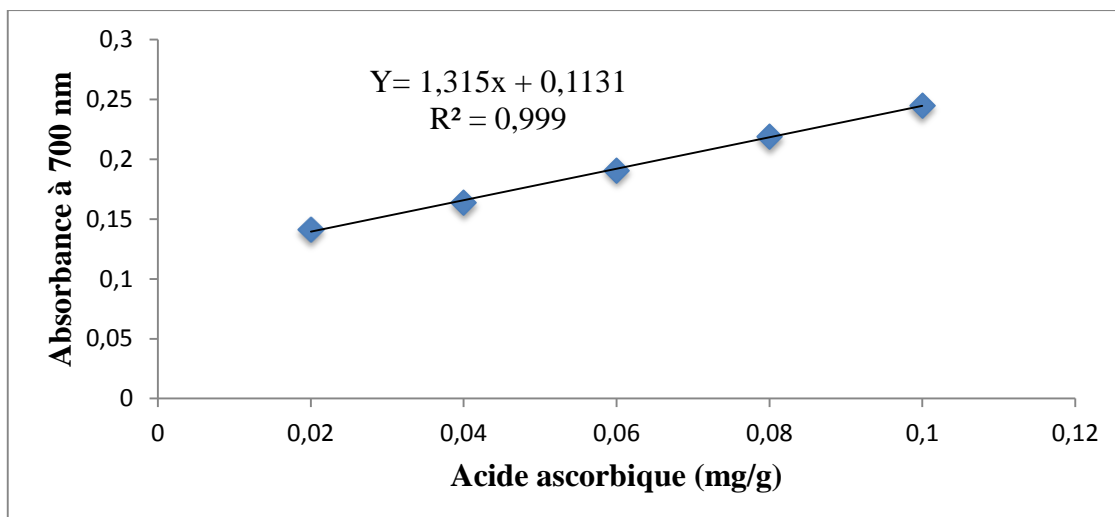


**Figure 02 :** Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

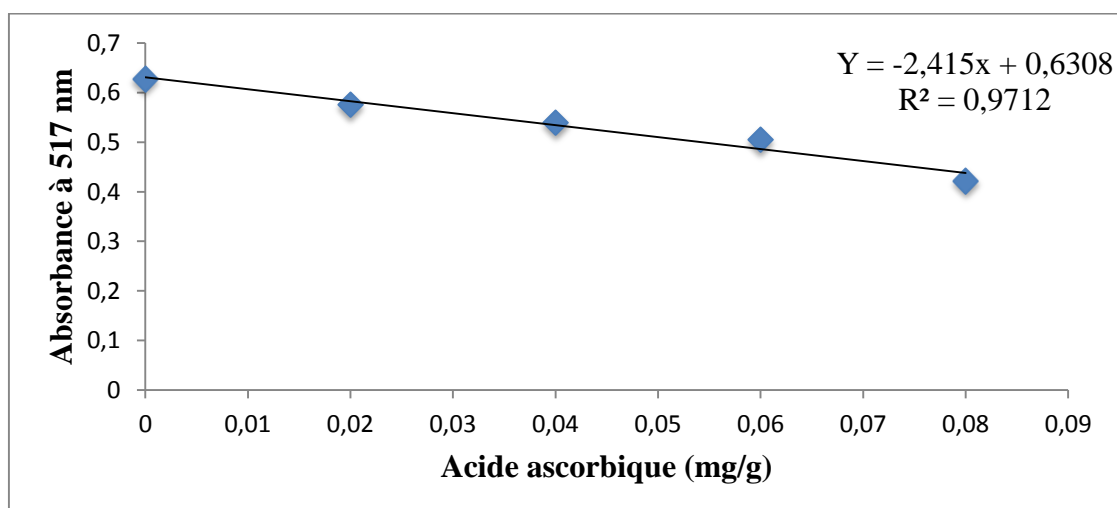


**Figure 03 :** Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.

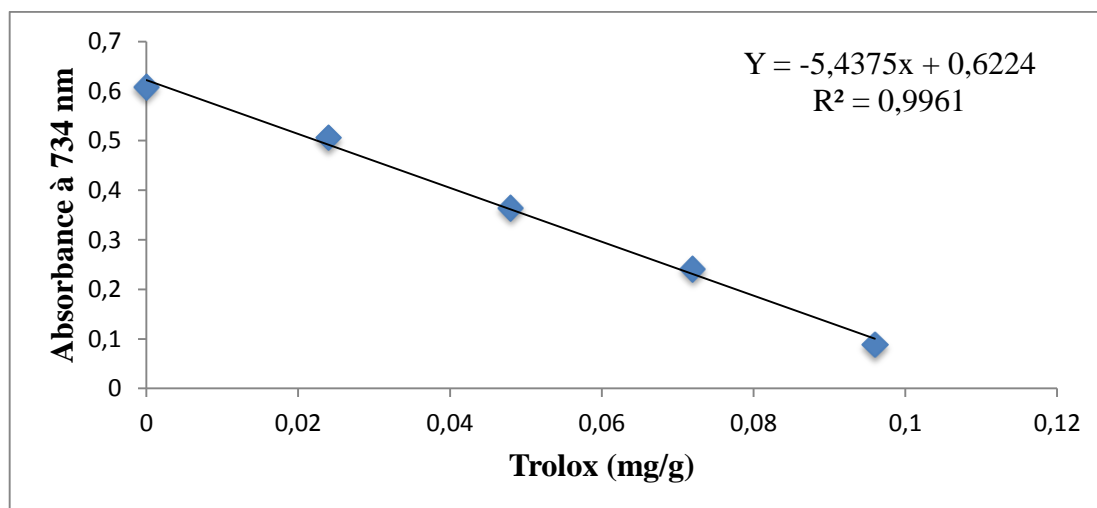




**Figure 04 :** Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur.



**Figure 05 :** Courbe d'étalonnage de DPPH.



**Figure 06 :** Courbe d'étalonnage de l'ABTS.

## Résumé

La présente étude porte sur l'effet des trois méthodes d'extraction (l'extraction assistée par microondes, l'extraction assistée aux ultrasons et l'extraction par macération) sur les extraits de feuilles et de graines de *Ziziphus jujuba*, appartenant à la famille des Rhamnaceae. Les extraits de cette plante sont étudiés pour déterminer leurs contenus en substances bioactifs et d'évaluer leurs activités antioxydantes par différents tests (pouvoir réducteur, DPPH et ABTS). La teneur la plus élevée des composés phénoliques des extraits de *Z. jujuba* est obtenu avec l'extraction assistée par microonde pour la feuille et la graines qui sont de l'ordre de 9788,49 mg EAG/100g MS et de 1804,02 mg EAG/100g MS respectivement. Et pour les flavonoïdes sont d'ordre de 960,52 mg EQ/100g MS et de 96,96 mg EQ/100g MS respectivement. Concernant les caroténoïdes, ils présentent une teneur de 48,05 mg E $\beta$ -Carotène/100g MS et 27,68 mg E $\beta$ -Carotène/100g MS. Cependant l'activité antioxydante la plus élevée de cette plante exprime une activité antiradicalaire qu'il soit pour le radical DPPH : 17353,62 mg EAA/100g MS et de 2969,43 mg EAA/100g MS ou bien pour l'ABTS<sup>•+</sup> : 9433,03 ET/100g MS et de 1508,22 mg ET/100g MS. La grande capacité antioxydante de *Z. jujuba* lui confère le pouvoir d'être une excellente source de métabolites secondaires qui sont capable d'inhiber l'activité des radicaux libres.

**Mots clés :** *Ziziphus jujuba* ; extraction ; feuilles ; activité antioxydante ; microondes ; graines ; polyphénols ; ultrason.

## Abstract:

This study examines the effect of the three extraction methods (microwave assisted extraction, ultrasound assisted extraction and maceration extraction) on extracts of leaves and seeds of *Ziziphus jujuba*, Family of the Rhamnaceae. Extracts of this plant are studied to determine their contents to bioactive substances and to evaluate their antioxidant activities by different tests (reducing power, DPPH and ABTS). The highest content of the phenolic compounds of *Z. jujuba* extracts is obtained with microwave assisted extraction which is of the order of 9788.49 mg EAG / 100 g MS 1804.02 mg EAG/100g MS and for flavonoids is of the order of 960.52 Mg EQ / 100g MS and 96.96 mg EQ/100g MS. Concerning the carotenoids, they have a content of 48.05 mg E $\beta$ -Carotene / 100 g MS. However, the antioxidant activity of this plant expresses the highest antiradical activity for the DPPH radical: 17353.62 mg EAA /100g 2969.43 mg EAA/100g MS and for ABTS<sup>•+</sup>: 9433.03 ET /100g MS and 1508.22 mg ET/100g MS .The high antioxidant capacity of *Z. jujuba* gives it the power to be an excellent source of secondary metabolites that are capable of inhibiting the activity of free radicals.

**Keywords:** *Ziziphus jujuba* ; Extraction ; Leaves ; Antioxidant activity ; Microwaves ; Seeds ; Polyphenols ; ultrasound.

## ملخص

الدراسة الحالية تركز على ثلاثة طرق استخراج (استخراج عن طريق الميكروويف استخراج عن طريق الموجات فوق الصوتية والميكروويف استخراج عن طريق الخلط) على مقتطفات اوراق وبذور نبتة السدر جوجوبا التي تنتمي الى عائلة سدريه. مقتطفات هذه النبتة مدروسة من اجل تحديد مضمون مستخلصاتها من حيث المواد النشطة بيولوجيا و المضادة للأكسدة عن طريق اختبارات مع قوة ارجاع ايونات الحديد DPPH و ABTS. تم الحصول على اعلى محتوى من المركبات الفينولية من السيدر جوجوبا بطريقة الميكروويف التي سجلت محتوى يقدر ب 9788,49 mg EAG/100g MS 1804,02 , و فيما يخص الفلافونويدات تم الحصول على قدر يساوى 960,52 , 96,96 mg EQ/100g MS اما فيما يتعلق بمحتوى الكاروتينويدات تم تسجيل قدر يعادل 48,05 27,68 mg E $\beta$ -Carotène/100g MS. اما القدرة العالية لهذه النبتة في نشاطات مضادات الاكسدة و الكسح الراديكالي سواء الذي يقدر ب 17353,62 , 2969,43 mg EAA/100g MS او الذي يقدر ب 9433,03 , 1508,22 mg ET/100g MS . تعتبر السدر جوجوبا مصدرا ممتازا للمركبات الثانوية بسبب قدرتها العالية في نشاطات المضادة للأكسدة وتنشيط الجذور الحرة

**كلمات البحث** الموجات فوق الصوتية , واتكينز عناب , استخراج يترك .النشاط المضاد للأكسدة .الميكروويف , البذور , البوليفينول