

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Abderrahmane Mira de Bejaïa**  
**Faculté des Science de la Nature et de la Vie**  
**Département de biologie physico-chimique**



# **Mémoire de Master**

**Filière : Science Biologique**

**Option : Biochimie Appliquée**

## **Thème**

**Optimisation d'extraction assistée aux ultrasons de composés phénoliques et l'activité antioxydante des différentes parties de *Ziziphus jujuba* (feuilles, pulpe et graines)**

**Présenté par : AMZAL Hakima et TAMAGUULT Ouardia**

**Soutenu le : 14 juin 2016**

**Devant le jury composé de :**

|                                   |            |           |
|-----------------------------------|------------|-----------|
| M <sup>me</sup> F.BEDJOU          | Professeur | Président |
| M <sup>me</sup> S. ALIOUI-ZEMOURI | MAB        | Encadreur |
| M <sup>r</sup> A.GHIDOUCHE        | MAA        | Examineur |

**Année Universitaire : 2015/2016**

---

## Sommaire

|  |    |
|--|----|
| Remerciement   |    |
| Liste des abréviations                                 |    |
| Liste des figures                                      |    |
| Liste des tableaux                                     |    |
| Introduction.....                                      | 1  |
| <b>CHAPITRE I:REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b>                |    |
| I.1. Généralités sur le Zizyphus jujuba.....           | 3  |
| I.1.1. Généralités .....                               | 3  |
| I.1.2. Classification botanique de Z. jujuba.....      | 3  |
| I.1.3. Description botanique du Z. jujuba.....         | 4  |
| I.1.4. Ecologie.....                                   | 4  |
| I.1.5. Activités biologiques du Z. jujuba.....         | 5  |
| I.1.5.1. Activités anti-inflammatoires.....            | 5  |
| I.1.5.2. activité antiulcéreuse.....                   | 5  |
| I.1.5.3. antidiabétique.....                           | 5  |
| I.2. Le stress oxydant et antioxydant.....             | 6  |
| I.2.1. Radicaux libre.....                             | 6  |
| I.2.2. Espèces réactives de l'oxygène.....             | 6  |
| I.2.3. Antioxydants.....                               | 7  |
| I.2.4. Sources des espèces réactives de l'oxygène..... | 8  |
| I.2.4.1. Sources endogènes.....                        | 8  |
| I.2.4.2. Sources exogènes.....                         | 9  |
| I.2.5. Mécanismes de défense contre les ERO.....       | 10 |

|  |    |
|--|----|
| I.2.5.1. Le système antioxydant enzymatique.....                         | 10 |
| I.2.5.2. système antioxydant non enzymatique.....                        | 11 |
| I.3. Composés bioactifs de <i>Ziziphus jujuba</i> .....                  | 11 |
| I.3.1. Composés phénoliques.....   | 12 |
| I.3.1.1. Biosynthèse.....  | 12 |
| I.3.1.2. Classification.....   | 12 |
| I.3.1.3. Effet antioxydant des polyphénols.....                          | 15 |
| I.3.2. Les caroténoïdes.....   | 17 |
| I.3.3. Vitamines antioxydantes.....                                      | 17 |
| I.3.3.1. Vitamine E.....   | 17 |
| I.3.3.2. Vitamine C.....   | 18 |
| I.4. Méthodes d'extraction des molécules bioactives végétale.....        | 18 |
| I.4.1. Extraction solide-liquide.....                                    | 18 |
| I.4.1.1Méthodes classique.....   | 19 |
| I.4.1.2. Méthodes alternative d'extraction.....                          | 20 |
| I.4.2. Paramètres influençant l'extraction des molécules bioactives..... | 22 |
| I.4.2.1. Matière végétale.....   | 22 |
| I.4.2.2.La technique d'extraction.....                                   | 22 |
| I.4.2.3. Nature des solvants.....  | 23 |
| I.4.2.4. Durée, température et pression.....                             | 23 |
| I.4.2.5. Rapport masse de matière/volume de solvant.....                 | 24 |
| I.4.2.6.Agitation.....   | 24 |

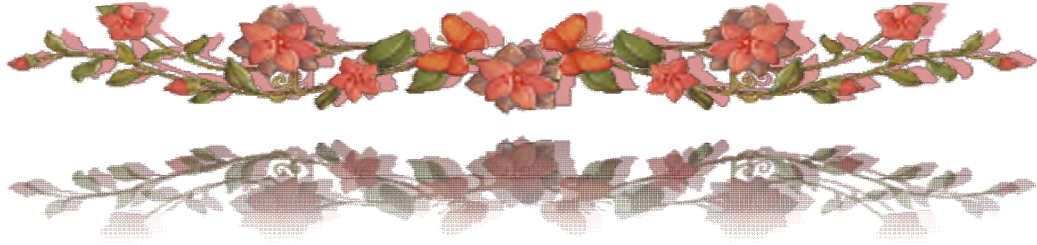
## CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

|  |    |
|--|----|
| II.1.Echantillonnage.....  | 25 |
| II.2. Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques..... | 26 |
| II.2.1-Optimisation de la nature du solvant d'extraction.....                | 27 |
| II.2.2-Optimisation du volume de solvant d'extraction.....                   | 27 |
| II.2.3-Optimisation de la puissance ultrasonique.....                        | 27 |
| II.2.4-Optimisation de ration (rapport matière sèche / solvant).....         | 28 |

|  |    |
|--|----|
| II.2.5-Optimisation du temps d'extraction.....                                 | 28 |
| II.3. Dosage des antioxydants.....   | 28 |
| II.3.1-Dosage des composés phénoliques totaux.....                             | 28 |
| II.4.Activité antioxydante.....  | 29 |
| II.4.1.Pouvoir réducteur .....   | 29 |
| II.4.2.Activité antiradicalaire.....   | 29 |
| II.5. Analyse statistique.....   | 30 |
| <b>CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION</b>                                   |    |
| III. Résultats et discussion.....  | 31 |
| III.1. Résultats d'optimisation de l'extraction des composés phénoliques.....  | 31 |
| III.1.1. Optimisation d'extraction des composés phénoliques de la feuille..... | 31 |
| III.1.1.1. La nature du solvant d'extraction.....                              | 32 |
| III.1.1.2. Concentrations du solvant d'extraction.....                         | 33 |
| III.1.1.3. La puissance ultrasonique.....                                      | 34 |
| III.1.1.4. Rapport solide / liquide (ratio).....                               | 36 |
| III.1.1.5. Le temps d'extraction.....  | 37 |
| III.1.2. Optimisation d'extraction des composés phénoliques de fruit.....      | 39 |
| III.1.2.1. Nature et volume du solvant d'extraction.....                       | 39 |
| III.1.2.2. La puissance ultrasonique.....                                      | 42 |
| III.1.2.3. Le rapport solide / liquide (ratio).....                            | 43 |
| III.1.2.4. Le temps d'extraction.....  | 45 |
| III.1.3. Optimisation d'extraction des composés phénoliques de la graine.....  | 47 |
| III.1.3.1. Nature et volume du solvant d'extraction.....                       | 47 |

|  |    |
|--|----|
| III.1.3.2. La puissance ultrasonique.....        | 50 |
| III.1.3.3. Rapport solide / liquide (ratio)..... | 51 |
| III.1.3.4. Le temps d'extraction.....            | 53 |
| III.2. Discussion.....                           | 55 |
| Conclusion.....                                  | 58 |
| Références bibliographiques.....                 | 59 |

Annexes



## **Remerciements**

*Nos remerciements vont tout d'abord à Dieu le tout puissant qui  
Nous a donné la force et la patience tout au long de ce travail*

*Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde  
Gratitude à M<sup>me</sup> S. Alioui-Zemouri notre promotrice pour ses conseils et ses  
Orientations.*

*Nous tenons à remercier aussi :*

*M<sup>me</sup> F. Bedjou, de nous avoir consacré de son temps en nous faisant  
L'honneur de présider le jury et d'évaluer notre travail ;  
M<sup>r</sup> A. Ghidouche, de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail ;*

*En bref nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près  
Ou de loin à la réalisation de ce travail ; un grand merci à tous surtout à M<sup>elle</sup>  
N. Tabti pour son aide, encouragements et ses conseils.*

# *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents qui ont été toujours à coté de moi

A mon cher frère Alim

A ma chère grande-sœur Lila que je considère comme une deuxième  
maman pour moi

A mes chères sœurs Kahina, Ratiba et Zina et leurs époux, Said, Kamel et  
Nourddine.

Aux petits anges : Anais, Yanni, Melina, Sarah, Axel et les deux Karéne

Une dédicace spéciale a ma binôme et toute sa famille

A mes chères copines de chambre A507

Linda, Tata, Lilia, Dima, Fazia et Chafia

A mes amis qui ont contribué de près ou de loin a la réussite de ce travail

Et surtout a mes très chers : Célia, Naima et Omar.

A toute la promotion 2015-2016 de Master Biochimie appliquée.

***OUERDIA***

## *DEDICACE*

*Je dédie ce modeste travail à :*

**En ce jour solennel, qui vient couronner mes efforts, je profite de l'occasion pour exprimer tous mes gratitudes en vers ma familles, Pour les deux êtres, qui m'ont vu grandir, qui m'ont transmis tout le savoir et qui étaient pour moi un cœur veillant pendant toute ma vie, les deux que je ne pourrais jamais assez remercier**

**A mon père Arezki et ma mère Yamina.**

**A ma chère sœur : Douda**

**A mes chers frères : Omar, Noureddine, Azeddine et Elhachemi**

**A toute ma famille et mes proches**

**A Mes chères amies**

**A mes copines de chambre**

**A ma chère binôme, copine et amie avec qui j'ai partagé le travail, ainsi pour tous les membres de sa familles**

**HAKIMA**



**LISTE DES ABREVIATIONS**

**Abs** : Absorbance

**DPPH** : 1-1'-diphényl-2-picryl-hydrazyl

**EAG** : Equivalent Acide Gallique

**EAM** : Extraction Assistée par Micro-ondes

**EAU** : Extraction Assistée par Ultrason

**ERO** : Espèce Réactive de l'Oxygène

**GPX** : Glutathion peroxydase

**GSH** : Glutathion

**SOD** : Superoxyde dismutase

**PH** : Potentiel d'hydrogène

**PZ-5** : pronthocyanidine de ziziphus jujuba avec 5 unités de flavanol

**TCA** : Acide trichloracétique

**PR** : Pouvoir réducteur

## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1:</b> Les différentes espèces réactives de l'oxygène.....   | 9  |
| <b>Figure 2:</b> Structure du noyau phénol.....  | 12 |
| <b>Figure 3 :</b> Structure de l'acide caféique.....   | 13 |
| <b>Figure 4:</b> Squelette de base des flavonoïdes.....  | 14 |
| <b>Figure 5:</b> Structure de l'acide gallique.....  | 14 |
| <b>Figure 6:</b> Structure chimique d'un tanin condensé (proanthocyanidine).....   | 15 |
| <b>Figure 7:</b> Piégeage des EOR par les flavonoïdes.....   | 16 |
| <b>Figure 8 :</b> Structure chimique de la vitamine E.....   | 17 |
| <b>Figure 9:</b> Structures chimiques des formes acide et basique de la vitamine C.....  | 18 |
| <b>Figure 10:</b> extracteur soxhlet.....  | 19 |
| <b>Figure 11:</b> Schéma d'un système d'extraction par solvant pressurisé.....   | 20 |
| <b>Figure 12:</b> Génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons.....  | 21 |
| <b>Figure 13:</b> Photographie des feuilles de <i>Ziziphus jujuba</i> .....  | 25 |
| <b>Figure 14:</b> Photographie du fruit de <i>ziziphus jujuba</i> .....  | 25 |
| <b>Figure 15:</b> Photographie de la graine de <i>ziziphus jujuba</i> .....  | 25 |
| <b>Figure 16:</b> Photographie des broyats des trois parties du jujubier (feuille, graine et fruit)..  | 26 |
| <b>Figure 17:</b> Photographie d'un Ultrasonicateur.....   | 27 |
| <b>Figure 18:</b> (a): Teneurs en composés phénoliques, (b) : Activité antioxydante des extraits des feuilles obtenus par différents solvants d'extraction respectivement.....   | 31 |
| <b>Figure 19:</b> (a): Teneurs en composés phénoliques, (b) : Activité antioxydante, des extraits des feuilles obtenus par différentes concentrations du méthanol.....           | 33 |
| <b>Figure 20:</b> influence de la puissance ultrasonique sur la teneur des feuilles de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a), et sur l'Activité antioxydante (b)..... | 34 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 21:</b> influence de rapport solide/liquide sur la teneur des feuilles de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a), et sur l'Activité antioxydante (b).....   | 36 |
| <b>Figure 22:</b> influence du temps d'extraction sur la teneur des feuilles de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a), et sur l'activité antioxydante (b).....       | 38 |
| <b>Figure 23:</b> Teneurs en composés phénoliques des extraits du fruit de <i>ziziphus jujuba</i> obtenus par différents concentrations du solvant d'extraction.....            | 40 |
| <b>Figure 24:</b> pouvoir réducteur et activité antiradicalaire des extraits de fruit de <i>ziziphus jujuba</i> obtenus par différents solvants.....                            | 41 |
| <b>Figure 25:</b> influence de la puissance ultrasonique sur la teneur de fruit de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).....     | 42 |
| <b>Figure 26 :</b> influence de rapport solide/liquide sur la teneur de fruit de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).....       | 44 |
| <b>Figure 27 :</b> influence du temps d'extraction sur la teneur du fruit de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).....           | 46 |
| <b>Figure 28:</b> Teneurs en composés phénoliques des extraits de graines de <i>ziziphus jujuba</i> obtenus par différents concentrations du solvant d'extraction.....          | 48 |
| <b>Figure 29:</b> pouvoir réducteur et activité antiradicalaire des extraits de graine de <i>ziziphus jujuba</i> obtenus par différents solvants.....                           | 49 |
| <b>Figure 30:</b> influence de la puissance ultrasonique sur la teneur de la graine de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b)..... | 50 |
| <b>Figure 31:</b> influence de rapport solide/liquide sur la teneur de la graine de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).....    | 52 |
| <b>Figure 32:</b> influence du temps d'extraction sur la teneur du fruit de <i>ziziphus jujuba</i> en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).....            | 54 |

Liste des tableaux

| Tableaux | Titres  | Pages |
|----------|---|-------|
| I        | les principales espèces réactives de l'oxygène générées dans les systèmes biologique. | 7     |
| II       | Composés phénolique des organes végétaux de <i>Z. jujuba</i>                          | 15    |
| III      | polarité des solvants utilisés pendant l'optimisation                                 | 23    |

## INTRODUCTION

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes aérobiques, toutefois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives de l'oxygène. Aux doses faibles, les ERO (espèces réactives de l'oxygène) sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que la transduction du signal. Aux doses excessives, les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme. La surproduction des ERO au delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies chroniques telles que l'athérosclérose, le cancer, le vieillissement et d'autres maladies dégénératives. (**Favier, 2003**).

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

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

*Ziziphus jujuba* est l'une des plantes médicinales fruitières épineuses de la famille des Rhamnacées largement utilisé en médecine traditionnelle, cultivée dans des régions tropicales et subtropicales de l'Asie, particulièrement en Chine, en Amérique et en Europe. La Chine est le plus grand producteur contribuant plus de 90% de la production de jujube du monde et le seul pays exportant des fruits de jujube. C'est une espèce polyvalente : ses fruits, ses feuilles et ses racines présentent plusieurs intérêts sur le plan nutritif, cosmétique et médicinal (**Wang et al., 2016**).

Les graines de *Z. jujuba* présentent plusieurs applications immunitaires, cosmétiques et en extrait des huiles à plusieurs activités industrielles et pharmaceutiques. Les feuilles, utilisées comme tisanes, sont connues comme régulatrices de l'activité du système nerveux central en diminuant l'anxiété, favorisant le sommeil et réduisant l'obésité. Son fruit

populairement consommé en tant que frais ou fruit sec et a été employé pour préparer des compotes, des confitures, des boissons et des gâteaux. (Azam et al., 2006).

Plusieurs paramètres influencent l'efficacité d'extraction des composés phénoliques :

La méthode d'extraction, le choix du solvant, le volume du solvant, la dimension des particules, le temps d'extraction, l'acidité, la température ...etc. L'extraction peut être effectuée par différentes techniques, telles que les extractions traditionnelles (Soxhlet, infusion et macération, et l'extraction liquide supercritique. Cependant, bien que ces méthodologies aient été utilisées pendant des décennies, il est important de mentionner que certains d'entre elles pourraient être la cause de dégradation des composés bioactifs visés, en raison des temps longs et les hautes températures d'extraction utilisés. L'extraction assistée par ultrason (EAU) est l'une des techniques les plus importantes pour extraire les composés bioactifs à partir des plantes. Le mécanisme du perfectionnement ultrasonique est principalement attribué au comportement des bulles de cavitation sur la propagation des ondes acoustiques, conduisant à une rupture des murs des cellules biologiques, facilitant le dégagement des composés extractibles (Muñiz et al., 2013).

La présente étude inclus deux parties principales :

La première partie est une synthèse bibliographique qui présente la description de *ziziphus jujuba*. Des données sur le stress oxydatif /antioxydants, les antioxydants de *ziziphus jujuba* et les méthodes d'extraction des polyphénols.

La deuxième partie de ce travail est une étude expérimentale qui a pour but de déterminer les conditions optimales pour l'extraction des polyphénols de différentes parties de *ziziphus jujuba* (feuille, fruit et graine) ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydante.

## I.1. GENERALITES SUR *ZIZIPHUS JUJUBA*

### I.1.1. GENERALITES

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

Découvert en 1767, le nom de *Ziziphus* dérive de l'appellation Berbère «Zizoufou Zuzaifo» (**Laamouri, 2009**). Cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique « Zizfum ou Zizafun», alors que les grecs utilisent le mot «Ziziphon» (**Kirkbride et al., 2006**).

La classification des espèces est basée principalement sur des caractéristiques morphologiques et leur mode d'utilisation. Ce genre regroupe plusieurs espèces environ 170 telles que *Z. spina-christ* (L.), *Z. vulgaris* (Mill.), *Z. lotus* (L.), *Z. mauritiana* (Lam.). Les deux espèces qui produisent des fruits comestibles sont *ziziphus mouritiana*. et *ziziphus jujuba* et cette dernière est l'espèce la plus populaire.

L'arbre de jujube est appelé dans les pays arabes : Sidre ,Nabk ,Anneb ,jujube et en chine datte chinoise (**Vines, 1960**).

L'espèce *jujuba* s'adapte facilement à la salinité des sols, aux excès d'eau et à la sécheresse, la propagation de cet arbre se fait généralement par la graine, parfois par bouturage de racine ou par la greffe.

### I.1.2. CLASSIFICATION DE *Z. JUJUBA*

La classification de *Z. jujuba* n'est pas claire. En effet, plusieurs auteurs ont attribué les mêmes noms à plusieurs espèces et plusieurs synonymes ont été accordés à *Z. jujuba*.

Embranchement : Spermatophytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Sous classe : Dicotylédone.

Ordre : Rhamnales

Famille : Rhamnacées.

Genre : *Ziziphus*.

Espèce : *Ziziphus jujuba* Mill. (Laamouri, 2009).

### I.1.3. DESCRIPTION BOTANIQUE

*Ziziphus jujuba* est un arbre ou arbuste épineux à croissance lente qui peut atteindre 10 m de hauteur et 50 à 60 cm de diamètre du tronc (Mahajan, 2009) avec des branches rigides vertes et épineuses.

Ses feuilles caduques glabres, dentées, ovales et courtement pétiolées, La face supérieure est verte foncée tandis que la face inférieure est verte pale.

Les fleurs de *Z. jujuba* sont nombreuses, petites, 5 cm de largeur avec 5 pétales inaperçus et 5 sépales, hermaphrodite et jaunâtre .Elle a un long pédoncule floral et les étamines sont disposées en un cycle de 5. Elles sont groupées en inflorescence sous forme de cyme axillaire sessile. Ces fleurs fleurissent en juin et juillet. Le jujubier se reproduit très fréquemment par fécondation (Diallo, 2004).

Le fruit de *Z. jujuba* appelé aussi «jujube» est une drupe ovale, charnue et consommable. D'abord verdâtre, présente la saveur et l'arôme d'une pomme (Mahajan, 2009) puis devient rouge noir et ridé à maturité, avec un gout d'une datte, d'où son nom datte chinoise, et noire violacée éventuellement pour le jujube séché. Il est ovoïde-oblong, de 1,8 à 2 cm de long avec un court pétiole. Les noyaux, plus souvent détachables des pulpes, peuvent atteindre 1,05 cm de long (El Aloui et al., 2010).

### I.1.4. ECOLOGIE

Le genre *Ziziphus* est connu par sa tolérance à la sécheresse et sa grande résistance à la chaleur (Paroda et al., 1989). Il peut être rencontré dans des zones désertiques avec des précipitations très faibles, cette espèce est capable de se développer sur tout type de sol, avec un pH neutre ou faiblement alcalin (5.5-8.5) (Liu et Zhao., 2008).

Indifférente au sol, *Z. jujuba* peut se développer sur des altitudes pouvant atteindre les 1550 m (El Rhouat, 2002).



### **I.1.5. ACTIVITES BIOLOGIQUES DE ZIZIPHUS JUJUBA**

Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus jujuba* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne. Parmi ces effets on souligne les plus importants.

#### **I.1.5.1. ACTIVITES ANTI-INFLAMMATOIRE**

Des graines de *Z.jujuba* se sont avérées comme antihistaminiques. la présence des jujubosides, des flavonoïdes et des terpènes, qui peuvent produire l'effet anti-inflammatoire marqué du fruit de *Z.jujuba* dans l'inflammation aiguë et chronique, probablement en empêchant l'expression d'oxyde nitrique(NO•).(Goyal et al., 2011).

#### **I.1.5.2. ACTIVITE ANTI-ULCEREUSE**

L'extrait de feuilles de zizyphus jujuba a une activité gastroprotective contre les ulcères expérimentalement induits chez les rats. Le mécanisme d'action gastroprotective peut être attribué à sa propriété anti-sécrétoire et cytoprotective. (Ganachari et Kumar., 2004).

#### **I.5.1.4. ACTIVITE ANTIDIABETIQUE**

(Kaeidi et al., 2014) ont étudié l'activité antioxydante de *Zizyphus jujuba* dans le système nerveux central, Après évaluation de l'effet des extraits aqueux de fruit de *Z. jujuba* sur la neurotoxicité induite par le glucose, et l'effet anti-apoptotique de ces extraits sur les cellules qui traitent l'élévation du glucose du phéochromocytome (PC12 exemple approprié pour l'évaluation de la mort neuronale de cellules chez les rats) en tant que modèle *in vitro* de la neuropathie diabétique.

Ils ont démontré l'effet neuroprotecteur de l'extrait aqueux de fruit de *Z. jujuba* car se protègent contre la toxicité cellulaire induite par l'hyperglycémie. Ceci a pu être associé à la prévention de la génération d'ERO et de l'apoptose neural. D'ailleurs, leurs résultats suggèrent que *Z. jujuba* ait un potentiel thérapeutique d'atténuer des complications de diabète telles que la neuropathie.

## **I.2. STRESSE OXYDANT ET ANTIOXYDANTS**

### **I.2.1. RADICAL LIBRE :**

Un radical libre est une espèce chimique, molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante «libre» en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale) **(Beaudeau et al .,2006)**, cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre. **(Martinez-Cayuela, 1995)**.

### **I.2.2. ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE**

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) incluent les radicaux libres (RL) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'acide hypochloreux (HOCl), l'oxygène singulet et l'ozone ( $O_3$ ) **(tableau N°1)**. Plus récemment les espèces azotées actives (EAA ou RNS) ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ( $NO^*$ ) **(Beaudeau et al .,2006)**

**Tableau 1 :** Les principales espèces réactives de l'oxygène générées dans les systèmes biologique. (Halliwell, 2006).

| Espèces réactives de l'oxygène(ERO)   |   |
|---|---|
| Radicalaires  | Non radicalaires  |
| OH• Radical hydroxyle<br>RO• Radical alkoxyl<br>ROO• Radical peroxy<br>O <sub>2</sub> • Anion superoxyde<br>NO• Radical oxynitrique | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Peroxyde d'hydrogène<br>ROOH Peroxyde organique<br>HOCL Acide hypichloreux<br><sup>1</sup> O <sub>2</sub> Oxygène singulet<br>ONOO <sup>-</sup> Peroxynitrite |

L'espèce réactive primaire de l'oxygène est l'anion super-oxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) résulte de la réduction univalente de l'oxygène moléculaire. Une grande partie de l'anion super-oxyde est transformée en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sous l'effet d'une enzyme, le superoxyde dismutase.

A son tour, le peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton peut se décomposer en présence de cuivre cuivreux ou fer ferreux pour donner une espèce hautement réactive et a durée de vie très courte, le radical hydroxyle (OH<sup>•</sup>). (Chu et al., 2010).

### I.2.3. ANTIOXYDANTS

Des molécules pro-oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toute fois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Poncelet et Sifer., 2011). Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la

consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante. ( **Papazian et Roch, 2008**).

#### **I.2.4. SOURCES DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE**

##### **I.2.4.1. SOURCES ENDOGENES**

###### **A) LA CHAINE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE**

Au niveau de la chaîne respiratoire au lieu d'une réduction contrôlée de l'O<sub>2</sub> aboutissant à la formation par le cytochrome oxydase d'H<sub>2</sub>O, Ce système peut laisser fuir quelques électrons qui vont réduire partiellement l'oxygène, 2% de l'oxygène subit une réduction mono électronique (addition d'un seul électron) conduisant à la formation du radical superoxyde O<sub>2</sub>• ( **Roede et Jones, 2010**).

###### **B) LE CYTOCHROME P450**

Le cytochrome P450 peut réduire directement O<sub>2</sub> en O<sub>2</sub>• en causant le stress oxydatif, il peut aussi prendre une voie alternative appelée (cycle de redox) dans laquelle un substrat accepte un électron du cytochrome P450 et transféré à l'oxygène générant l'anion superoxyde. ( **Beckamane et al., 1998**).

###### **C) LE PEROXYSOME**

Les peroxysomes sont une majeure source endogène de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> via la B-oxydation des acides gras. ( **Gulcin et al., 2006**).

###### **D) LA XANTHINE OXYDOREDUCTASE**

La xanthine oxydase (XO) est une source importante de radicaux libres. Elle transforme l'hypoxanthine en xanthine puis en acide urique, produisant au cours de chacune de ces deux réactions un anion superoxyde. ( **Vorbach et al., 2003**).

**E) LA NADPH OXYDASE**

Elle catalyse le transfert d'électrons de son substrat le NADPH à l'accepteur final l'oxygène entraînant la production d'anions superoxyde. (Rodrigo et al., 2011).

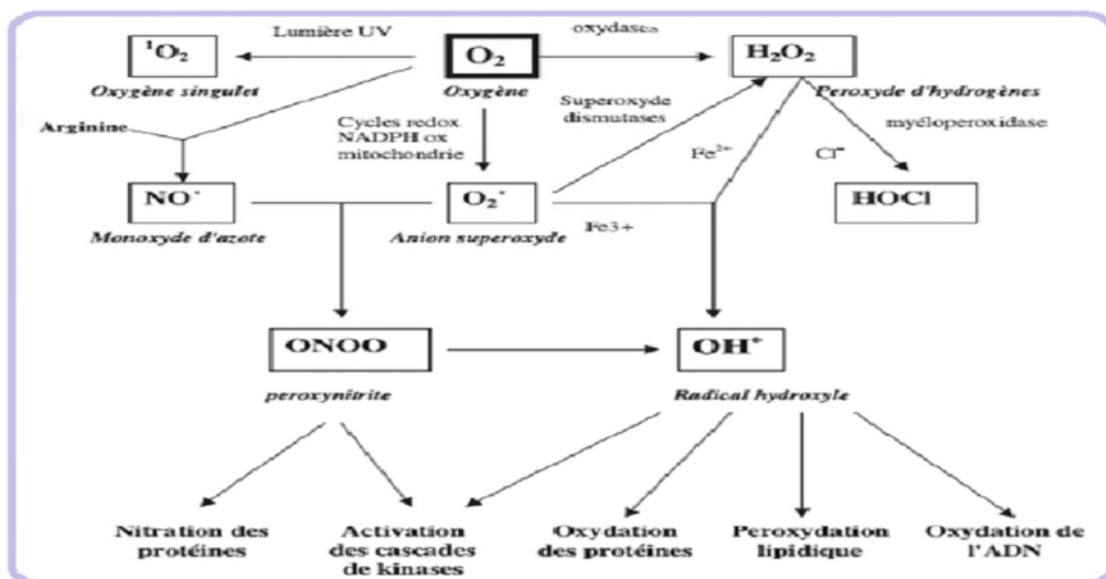
**F) L'OXIDE NITRIQUE SYNTHASES**

Durant le métabolisme de l'acide arachidonique, les lipooxygénases génèrent de ERO de plus dans les conditions normales, l'oxyde nitrique synthase convertie l'arginine en citrulline et en monoxyde d'azote. (Lee et al., 2004).

**I.2.4.2. SOURCES EXOGENES**

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des espèces réactives oxygénées. Les rayonnements UV induisent la synthèse de radicaux libres ( $O_2\cdot$ ,  $OH\cdot$ ,  $^1O_2$ ) et des molécules génératrices de radicaux libres ( $H_2O_2$ ) par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants. Les radiations ionisantes provoquent également la génération d'ERO. (Milane, 2004).

L'ingestion d'alcool ou de certains médicaments (ex : catécholamines) et le tabagisme est suivie de la formation des radicaux libres dans notre organisme, susceptible de surpasser nos défenses antioxydants naturelles. (Figure 01) (Milane, 2004).



**Figure 1** : Les différents sources d'espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

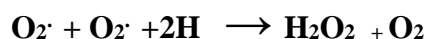
### I.2.5. MECANISMES DE DEFENSE CONTRE LES ERO

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique d'ERO est assuré par des systèmes antioxydants, dont le rôle principal est de neutraliser et de dégrader les radicaux libres. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. Les antioxydants peuvent être divisés en deux groupes selon leur mode d'action : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques.

#### I.2.5.1. LE SYSTEME ANTIOXYDANT ENZYMATIQUE

##### A) LA SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD)

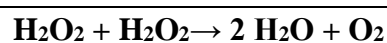
Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par des enzymes appelées superoxydes dismutases (SOD) qui catalysent sa disparition par dismutation (**Landis et Tower., 2005**).



Chez les mammifères, la SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD) (**Touati, 2010**).

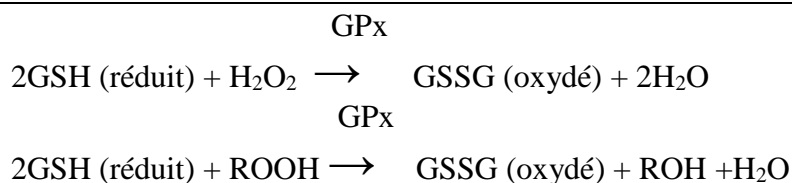
##### B) LA CATALASE

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes. Elle permet de convertir deux molécules de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub> (**Valko et al., 2006**).



## B) LA GLUTATHION PEROXYDASE

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). (Valko *et al.*, 2006).



## C) LA GLUTATHION REDUCTASE

La glutathion réductase est une flavoprotéine membranaire dépendante de NAD(P) H et FAD La glutathion réductase assure la régénération du glutathion oxydé par la réaction de réduction du peroxyde d'hydrogène catalysée par la glutathion peroxydase. (Valko *et al.*, 2006).



### I.2.5.2. SYSTEME ANTIOXYDANT NON ENZYMATIQUE

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart des antioxydants non enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie, les oligoéléments (le cuivre, le fer, le manganèse, le sélénium et le zinc), la glutathion réduit (GSH), l'acide ascorbique (vitamine C), l'alpha tocophérol (vitamine E), les caroténoïdes et les polyphénols. (Mircea *et Isabel.*, 2015).

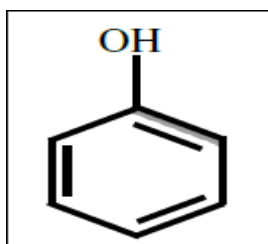
### I.3. COMPOSES BIOACTIFS DE ZIZIPHUS JUJUA

#### I.3.1. COMPOSES PHENOLIQUES

. Les composants phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. (Figure 2)

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits. (Boizot et Charpentier, 2006).

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, antiinflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antiradicalaires et antimicrobiens. (Bahorun, 1998 et Cetkovic et al., 2008)



**Figure 2:** Structure du noyau phénol (Sarni et Cheynier., 2006).

##### I.3.1.1. BIOSYNTHESE

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme. (Dumas et Charriere, 1979)

##### I.3.1.2. CLASSIFICATION

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en une dizaine de classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base, ensuite par le degré de



modifications de ce squelette, enfin par les liaisons possibles des ces molécules de base avec d'autres molécules (Macheix et al., 2005)

## ❖ POLYPHENOLS SIMPLES

### A. ACIDES PHENOLIQUES

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes. Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique. (Cowan, 1999).

- Les acide hydroxybenzoïque

Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type  $C_6C_1$ . Ils existent fréquemment sous forme d'ester ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins. Dont les plus répandus sont l'acide gallique et la vanilline. (Gresele et al., 2011).

- Acides hydroxycinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base ( $C_6C_3$ ) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont l'acide coumarique (et ses isomères) et les acides caféique, férulique et sinapique. (Figure 3) (Chira et al., 2008)

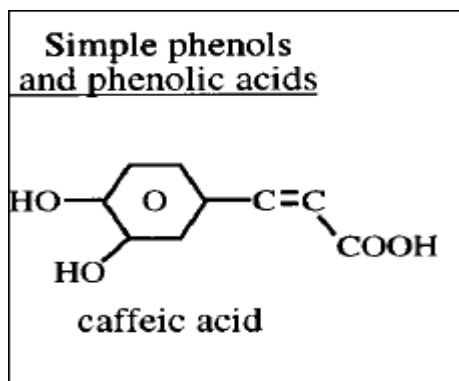


Figure 3 : Structure de l'acide caféique (Cowan, 1999).

## B. LES FLAVONOÏDES

Ces molécules ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C). (Figure 4) (Erdman *et al.*, 2007).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl, et isoprényle (Beecher, 2003 et Gresele *et al.*, 2011)

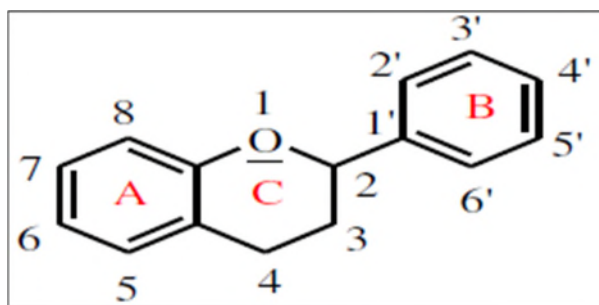


Figure 4: Squelette de base des flavonoïdes. (Cheynier *et al.*, 1998)

## C. LES TANINS

Les tanins sont définis comme des composants polyphénoliques dont le poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Dalton (Cowan, 1999).

Ils peuvent être divisés en deux groupes

- ❖ Les tanins hydrolysables

Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique. (Figure 5) (Crespy, 2002).

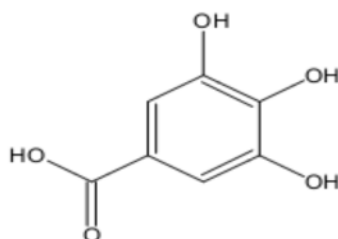
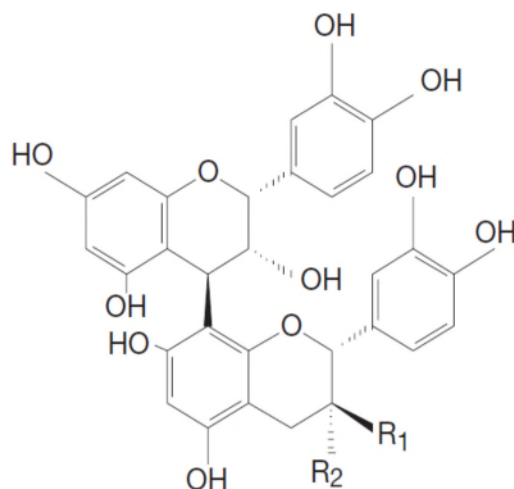


Figure 5: Structure de l'acide gallique. (Cheynier *et al.*, 1998).

## ❖ Les tanins condensés

Les tanins condensés, appelés proanthocyanidines ou procyanidines, sont des polyphénols de masse molaire moléculaire élevée. (Figure 6) (Wollgast et Anklam., 2000)



**Figure 6:** Structure chimique d'un tanin condensé (proanthocyanidine) (Cheynier et al., 1998)

Les tanins ont des grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénol. Elles ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides, en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation. (Peronny, 2005).

En 1997, Malik et al., ont démontré que les feuilles de *Z. jujuba* ainsi que les épines contiennent du tanin. Souvent rencontrée dans les feuilles, les fruits, les racines et les écorces, cette composition varie selon l'organe et l'écotype.

**Tableau II :** Composés phénolique des organes végétaux de *Z. jujuba*

| Composés chimiques | Organes            | Références          |
|--------------------|--------------------|---------------------|
| Flavonoïdes        | Feuilles et fruits | (San et al, 2010)   |
| Proanthocyanidines | Ecorces            | (Malik et al, 2002) |

### I.3.1.3. EFFET ANTIOXYDANT DES POLYPHENOLS

Les composés phénoliques, Ce sont des composées, naturels, qui permettent de ralentir le phénomène d'oxydation (Macheix et al, 2005). Par différents mécanismes

## A. INHIBITION ENZYMATIQUE

Les acides hydroxycinnamiques sont des inhibiteurs de protéines de coagulation (la thrombine).

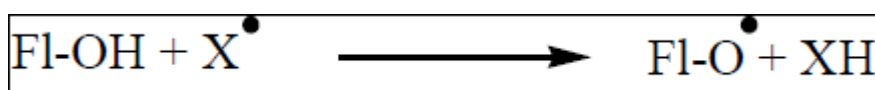
L'inhibition de la production des EOR par les flavonoïdes, peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage direct des EOR, ces derniers sont bien illustrés par le cas de la xanthine oxydase. (Nkhili, 2009).

## B. CHELATION DES IONS METALLIQUES

Divers polyphénols sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques. (Hayakawa et al., 1997) l'autoxydation des ions  $Fe^{2+}$  et  $Cu^{+}$ , est une source de superoxyde et peroxyde d'hydrogène. Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre par certains flavonoïdes sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante. (Navarro et al., 2005)

## D. PIEGEAGE DES RADICAUX LIBRES

Les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes (FI-OH), sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes ( $ROO^{\bullet}$ ), alkoxydes ( $RO^{\bullet}$ ) et hydroxyle par transfert d'hydrogène :



Où  $X^{\bullet}$  représente l'un des EOR mentionnés ci-dessus.

Le radical aryloxyde ( $FI-O^{\bullet}$ ) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (Figure 7)

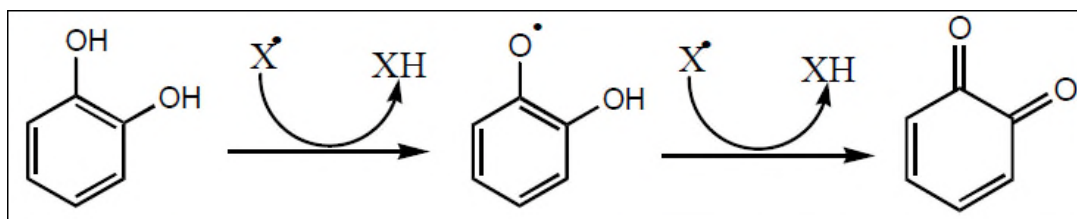


Figure 7: Piégeage des EOR par les flavonoïdes (Hayakawa et al., 2004)

### I.3.2. LES CAROTENOÏDES

Les caroténoïdes sont des colorants naturels synthétisés par les plantes et sont responsable des couleurs lumineuses de divers fruits et légumes (orange, rouge et jaune). Différents types de caroténoïdes (alpha-carotène, bêta-carotène, la lutéine, lycopène, etc.) dont la plupart de ces derniers ont l'activité antioxydante.

Le bêta-carotène est le majeur caroténoïde commun en fruits et légumes. Le contenu des fruits de jujube en bêta-carotène était très bas quand ils ont été comparés à d'autres fruits tels que l'abricot avec un contenu élevé de bêta-carotène. (Bekir san et al., 2010).

### I.3.3. VITAMINES ANTIOXYDANTES

Ce sont des substances dont l'organisme ne peut en général faire la synthèse, nécessaires à l'organisme et à sa croissance agissant à doses minimales, dépourvues de valeur calorique intrinsèque et qui doivent être apportées par le régime alimentaire. Les vitamines ont le plus souvent un rôle de cofacteur dans les synthèses enzymatiques et membranaires. (Hercberg et al., 1998).

#### I.3.3.1. VITAMINE E

Désigne une famille de molécules chimiques. Elle existe quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , avec une activité antioxydante variable. L'alpha tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et, sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs (Figure 8) (Carr et al., 2000).

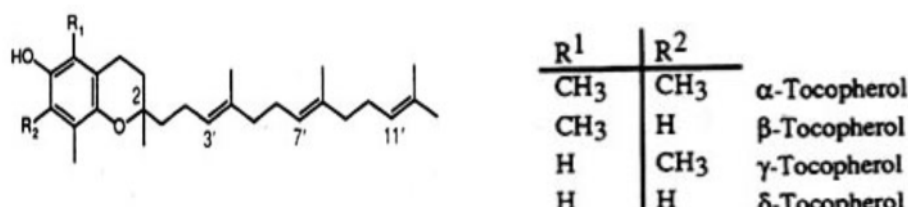
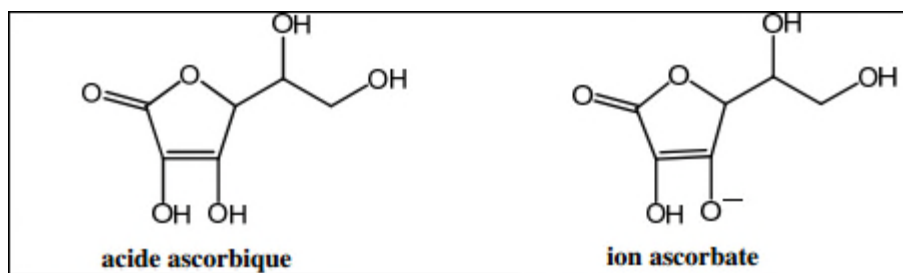


Figure 8 : Structure chimique de la vitamine E

La fonction la plus connue de la vitamine E est celle d'antioxydant capable de protéger la vitamine A, les carotènes et les acides gras polyinsaturés (AGPI) de l'oxydation et de piéger les radicaux peroxydes (LOO•) pour donner des hydroperoxydes (LOOH) stables et peu réactifs.

### I.3.3.2. VITAMINE C

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL, produite par divers systèmes générateurs d'espèces réactives. Les fruits du jujubier sont riche en acide ascorbique en quantité importante, ce qui représente deux à quatre fois sa teneur dans les agrumes (Figure 9) (wang et al., 2013)



**Figure 9:** Structures chimiques des formes acide et basique de la vitamine C (Matte, 1998)

La vitamine C permet également la régénération du radical tocophéroxyde (Vit E•), formé au cours de la réaction de protection anti-radicalaire. Elle réduit la glycosylation et augmente l'activité des enzymes antioxydantes. (Chen et al., 2000)

## I.4. METHODES D'EXTRACTION DES MOLECULES BIOACTIVES VEGETALE

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques. (Galvan D'Alessandro, 2013)

Le choix de la méthode d'extraction est basé sur des données préalables sur les caractéristiques physicochimiques des métabolites à extraire.

### I.4.1. EXTRACTION SOLIDE-LIQUIDE

L'extraction solide-liquide est la technique la plus utilisée pour la récupération de molécules bioactives à partir de source végétale. Elle est largement appliquée en industries agro-alimentaire et pharmaceutique. (Galvan, 2013)

### I.4.1.1 METHODES CLASSIQUE

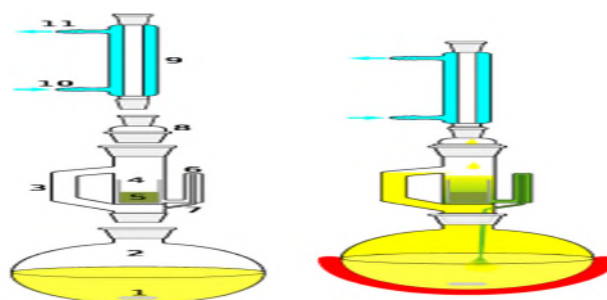
#### A. EXTRACTION PAR MACERATION (EXTRACTION PAR SOLVANT ORGANIQUE)

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction. (Singh et al., 2008)

#### B. EXTRACTION PAR SOXHLET

Un extracteur soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante.

**Principe:** Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés soluble, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extract. (Figure 10) (EL Kalamouni, 2010).



1: Agitateur magnétique, 2: Ballon en verre pour extraction, 3: Piste de distillation, 4: Cartouche cellulosique, 5: Solide/sédiments à extraire, 6 & 7: Entrée et sortie du syphon, 8: Accessoire-adaptateur (facultatif), 9: Condensateur, 10: Entrée d'eau pour le refroidissement du système, 11: Sortie d'eau pour le refroidissement du système.

**Figure10:** extracteur soxhlet. (EL Kalamouni, 2010).

### I.4.1.2. METHODES ALTERNATIVE D'EXTRACTION

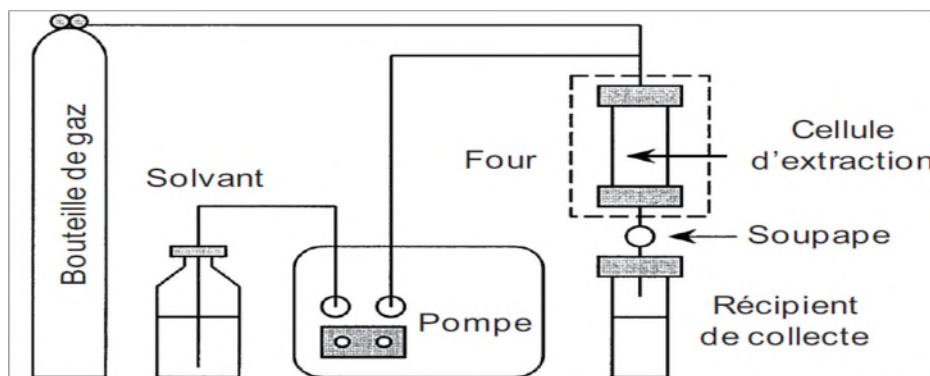
#### A. EXTRACTION ASSISTEE PAR MICROONDES

L'extraction assistée par microondes est une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes. Ce procédé consistait à irradier par micro-ondes de la matière végétale, en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble était chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. (Mandal et al., 2007)

#### B. EXTRACTION PAR SOLVANT PRESSURISE

L'extraction par solvant pressurisé est utilisée pour l'extraction de différents composés bioactifs de différents matériels végétaux.

Cette technique utilise les mêmes solvants que la macération mais à des pressions élevées (100 – 140 atm) ce qui permet de maintenir le solvant à l'état liquide à des températures supérieures à son point d'ébullition (50 – 200°C). Dans ces conditions, le solvant présente des propriétés favorisant le processus d'extraction telles qu'une viscosité réduite, des coefficients de diffusion élevés conduisant à de bonnes cinétiques de dissolution et favorisant la désorption de solutés de la matrice végétale. (Figure 11) (Romanik et al., 2007)





**Figure 11:** Schéma d'un système d'extraction par solvant pressurisé. (Björklundet al., 2000)

L'échantillon solide est introduit dans une cellule d'extraction en acier qui est ensuite placée dans un four et remplie avec le solvant d'extraction. Afin d'éviter la surpression, une valve statique s'ouvre et se ferme automatiquement si la pression dépasse la limite pré établie. Le solvant qui s'échappe est collecté dans un récipient. Les cycles d'extraction statique peuvent être répétés plusieurs fois afin d'optimiser l'extraction. (Kaufmann et al., 2002)

### C. Extraction assistée par ultrasons

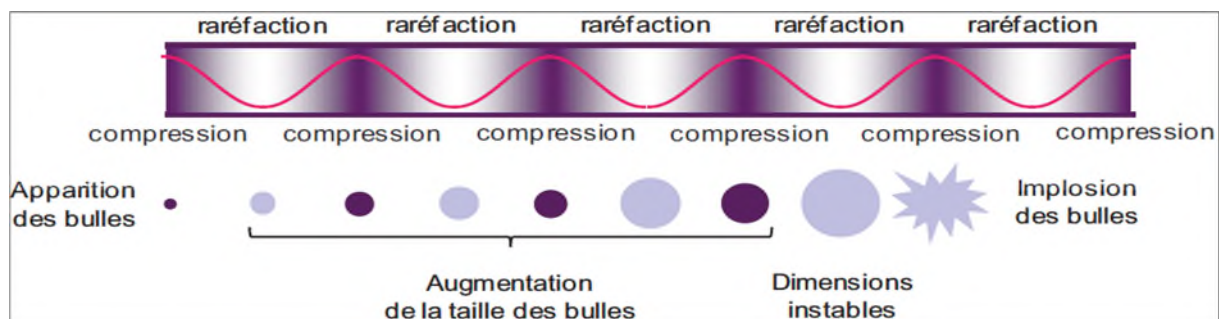
L'extraction assistée aux ultrasons a été employée avec succès pour récupérer des polyphénols et d'autres composés bioactifs de diverses matrices végétales dans un temps court. (Orphanides et al., 2014)

Les ultrasons sont des ondes mécaniques avec la gamme de varie approximativement de 10 kilohertz à 20 mégahertz. (Luo et al., 2014).

.....L'utilisation de la pression dans cette technique peut mieux favoriser des effets ultrasoniques de cavitation, créant de ce fait les forces de cisaillement qui cassent les parois des cellules et produisent des bulles. (Liu et al., 2015)

.....Au moment où la dimension critique est atteinte les bulles implosent pendant le cycle de compression. Ce processus de compression-raréfaction des molécules du milieu et le collapse de bulles est appelé « cavitation » (Figure 12) (Patist et al., 2008)

Ces bulles peuvent faciliter la pénétration du solvant dans la matière végétale crue ou le matériel intracellulaire pour améliorer le transfert de matière. (Liu et al., 2015)



**Figure 12:** Génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons. (Mason et al., 2000)

### **Avantage**

- Technique de faible coût.
- Fort rendement d'extraction.
- Réduction du temps d'opération.
- Peut-être utilisée avec différents solvants
- La réduction du volume de solvant utilisé (**Muñiz-Márquez et al., 2013**)

### **Inconvénients**

L'effet des ultrasons sur le rendement et la vitesse d'extraction peut être lié à la nature de la matrice de la matière végétale. (**Royer et Houde ., 2010**)

Cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus d'extraction. (**Penchev, 2010**)

## **I.4.2. PARAMETRES INFLUENÇANT L'EXTRACTION DES MOLECULES BIOACTIVES**

Plusieurs paramètres ont une influence directe sur la qualité de l'extrait et sur l'efficacité du procédé. Un ensemble de facteurs qui doivent être pris en considération dans le développement d'une méthode d'extraction. (**Royer et Houde ., 2010**)

### **I.4.2.1. MATIERE VEGETALE**

Choix des plantes : Seules les plantes saines de l'espèce recherchée doivent être récoltées.

Provenance (région d'origine) : Le sol dans lequel pousse la plante et le climat qui règne dans une région donnée

Stade végétatif : La récolte doit avoir lieu pendant le stade végétatif

Partie de la plante distillée : Les diverses parties d'une même plante (fleur, feuille, tige, écorce, racine, etc.) peuvent produire des essences différentes. (**Royer et Houde., 2010**)

### I.4.2.2. LA TECHNIQUE D'EXTRACTION

La technique d'extraction représente un facteur primordial qui influencera la qualité de l'extrait et le rendement d'extraction. Pour une technique donnée, plusieurs « méthodes » peuvent être développées. Ces méthodes vont déterminer les paramètres optimaux d'extraction des molécules « cibles ». . (Royer et Houde., 2010)

### I.4.2.3. NATURE DES SOLVANTS

La solubilisation des composés dépend de leur affinité avec le solvant. Les différences de polarité entre les divers solvants permettent donc de cibler des groupes de molécules spécifiques. . (Royer et Houde., 2010)

**Tableau III:** polarité des solvants utilisés pendant l'optimisation. (Bourgou et al., 2016)

| Solvants d'extractions | formules                        | polarités |
|------------------------|---------------------------------|-----------|
| Acétone                | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O | 0.355     |
| Ethanol                | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O | 0.654     |
| Méthanol               | CH <sub>4</sub> O               | 0.762     |
| Eau                    | H <sub>2</sub> O                | 1         |

### I.4.2.4. DUREE, TEMPERATURE ET PRESSION

La réduction de la pression provoque un abaissement des températures d'ébullition et de condensation. Inversement, toute augmentation de pression entraîne une élévation de ces températures. (Cicile, 2001).

L'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité et de la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité. Elle doit être limitée pour éviter les risques d'extraction des composés nuisibles et la dégradation thermique du soluté. (Leybros et Fremeaux., 1990).

La durée est étroitement liée à la cinétique d'extraction. La connaissance de la cinétique permettra d'arrêter l'extraction lorsque le rendement souhaité est atteint et de ne pas continuer l'opération. (Mandal et al., 2007)

#### **I.4.2.5. RAPPORT MASSE DE MATIERE/VOLUME DE SOLVANT**

Il faut définir le rapport optimal entre la quantité de matière sèche à extraire et le volume de solvant. L'effet de ce paramètre est relié aux principes du transfert de masse, donc le gradient de concentration entre le solide et le liquide. Plus le rapport solide/liquide est faible plus ce transfert est efficace<sup>15</sup>. **(Pinelo et al., 2005)**

#### **I.4.2.6. AGITATION**

Facteur majeur, de nombreux travaux ont démontré qu'augmenter la vitesse d'agitation dans le mélangeur a une influence significative sur le rendement d'extraction. **(Dibert et Cross., 1989)**

## II.1-ECHANTILLONNAGE

Les feuilles et le fruit de *Ziziphus jujuba* étudiés proviennent de la région de Kherrata située a la wilaya de Bejaia .En septembre 2015,les feuilles et le fruit ont été récoltés au stade final de leur maturité par la promotrice Alioui –Zemouri .Pour éviter les réactions de dégradation et de développement des moisissures , les échantillons de fruit de jujube (figure N°13) ont été placés dans des boites fermées et stockées dans un congélateur jusqu'à utilisation. Les feuilles de jujubier (figure N°14) ont été séché a l'aire libre (20-25 jours) après dans l'étuve a 37 °C pendant 48 heures et a la fin broyé et conservé dans des boites stériles.



**Figure 13:** Photographie du fruit de *Ziziphus jujuba*.



**Figure 14:** Photographie des feuilles de *Ziziphus jujuba*

**Figure 15:** Photographie de la graine de *ziziphus jujuba*



**Figure 16:** Photographie des broyats des trois parties du jujubier (feuille, graine et fruit)

## II.2. OPTIMISATION DES PARAMETRES D'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES

L'optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques est une méthode dans la quelle on fixe des paramètres initiaux et on modifie l'un après l'autre suivant une succession bien déterminé pour qu'on puisse a la fin avoir des paramètres optimaux et qui nous donne les meilleurs rendement d'extraction. Et dans notre travaille on a fixé les paramètres suivant comme point de départ pour l'optimisation:

Type de solvant (méthanol, éthanol, acétone et eau)

Puissance ultrasonique 50%

Rapport solide/liquide: 1/100 (cas de feuille), 1/50 (cas de fruit et graine).

Temps d'extraction 5 min.

### II.2.1-OPTIMISATION DE LA NATURE DU SOLVANT D'EXTRACTION

Une extraction est effectuée sur 0,12g de la poudre des feuilles et 0,2g du broyat du fruit et de la graine de jujube avec 12 ml et 10 ml, respectivement. Quatre solvants utilisés (méthanol, éthanol, acétone et l'eau distillée). Après ultra-sonication pendant 5 minutes, les mélanges sont centrifugés à 3000 tours pendant 5 minutes pour la feuille et 5000 tours pendant 10 min pour le fruit et la graine. Les surnageant récupérés et filtrés constituent les extraits.

### II.2.2-OPTIMISATION DU VOLUME DE SOLVANT D'EXTRACTION

Une extraction est effectuée avec 12 ml du solvant optimisé (méthanol) pour la feuille et 10 ml (acétone) pour le fruit et la graine à différentes concentrations (25% ,50%,75% et 100%). Après sonication pendant 5 minutes, les mélanges sont centrifugés à 3000 tours pendant 5 minutes pour la feuille et 5000 tours pendant 10 min pour le fruit et la graine, les surnageant récupérés et filtrés constituent les extraits

### II.2.3-OPTIMISATION DE LA PUISSANCE ULTRASONIQUE

0,12 g de la poudre des feuilles du jujube et 0,2 g du broyat du fruit et la graine le mélanger avec 12 ml du méthanol 75%, 10 ml de l'acétone 60% et 10 ml de l'acétone 50% respectivement. Ces mélanges subissent une sonication à différentes puissances (25%,50%,75% et 100% ) pendant 5 minutes suivi d'une centrifugation à 3000 tours pendant 5 minutes pour la feuille et 5000 tours pendant 10 min pour le fruit et la graine , à la fin les extraits obtenus sont filtrés.



**Figure 17** : Photographie d'un Ultrasonicateur.

#### II.2.4-OPTIMISATION DE RATION (RAPPORT MATIERE SECHE / SOLVANT)

Des différents rapport solide/liquide (1/50, 1/100, 1/150, 1/200, 1/250, et 1/300) de la poudre des feuilles de jujube et du broyat du fruit et de la graine est mélanger avec 12 ml du méthanol 75% pour la feuille et 10 ml d'acétone 60% et l'acétone 50% pour le fruit et la graine respectivement. Ces mélanges subissent une sonication à 50% d'amplitude pour la feuille et la graine et 75% d'amplitude pour le fruit pendant 5 minutes, les extraits obtenus sont filtrés par la suite.

#### II.2.5-OPTIMISATION DU TEMPS D'EXTRACTION

0,06 g de la poudre des feuilles de jujube et 0,2 g du broyat du fruit et de la graine sont mélangé avec 12 ml du méthanol 75% et 10 ml de l'acétone 60% et d'acétone 50% respectivement .Le mélange à subir une sonication de 50% d'amplitude pour la feuille , graine et de 75% d'amplitude pour le fruit, par une variété du temps (1 min,3 min,5 min,10min,15 min et 20 min ).Les mélanges obtenus sont centrifugé, les surnageant récupérés et filtrés constituent les extraits.

### II.3-DOSAGE DES ANTIOXYDANTS

#### II.3.1-DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES TOTAUX

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

La teneur en composés phénoliques est déterminée selon le protocole de (**Boizot et Charpentier., 2006**). 200µl d'extrait avec 1000 µl du réactif de folin-ciocalteu (1/10) et 800 µl de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$  (6%) sont ajoutés respectivement. Après, le mélange est incubé 90 minutes à l'obscurité, et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des acides phénoliques présents dans l'échantillon. Les absorbances sont mesurés à 740 nm.

La concentration en composés phénoliques de l'extrait, exprimée en mg équivalent d'acide gallique mg (EAG)/100 g de la matière sèche, est déterminée en se référant à la



courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique. (Figure A Annexe 1)

## II.4-ACTIVITE ANTIOXYDANTE

### II.4.1-POUVOIR REDUCTEUR

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . L'augmentation de l'absorbance du mélange contenant l'extrait indique une augmentation du pouvoir réducteur. (Chew et al., 2009).

200  $\mu$ l d'extrait a été mélangé avec 500  $\mu$ l de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 500  $\mu$ l de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) (1%). Après incubation à 50°C pendant 20 minutes dans un bain marie, 500  $\mu$ l d'acide trichloracétique (TCA) à (10 %) ont été ajoutés au mélange. On prend 500  $\mu$ l de ce mélange dans des tubes à essai on rajoute 500  $\mu$ l d'eau distillé et 200  $\mu$ l de chlorure ferrique à (0,1 %). (Viuda et al. 2011).

L'absorbance est mesurée à 700 nm après 10 minutes. Le standard utilisé est l'acide ascorbique. Une augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur. (Figure B Annexe 1)

### II.4.2-ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

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

L'activité antiradicalaire est mesurée selon la méthode suivante : 1500  $\mu$ l de la solution DPPH (60 mM) et 100  $\mu$ l de l'extrait sont mélangés puis incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. (He et al., 2011).

Les absorbances sont mesurées à 517 nm. L'activité anti-radicalaire est exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique mg (EAA)/100 g de la matière sèche, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions. (Figure C Annexe 1)

**II.5. ANALYSE STATISTIQUE**

Toutes les données réalisées sont la moyenne de trois essais .Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007, afin de déterminer les moyennes et les écarts types.

Une analyse de la variance (ANOVA-LSD) est appliquée à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5, afin de mettre en évidence les différences significatives entre les échantillons de différentes parties de *Ziziphus jujuba* pour chaque paramètre. Le degré de signification des données est pris à la probabilité  $p < 0,05$ .

### III. RESULTATS ET DISCUSSION

#### III.1. RESULTATS D'OPTIMISATION DE L'EXTRACTION DES COMPOSEES PHENOLIQUES

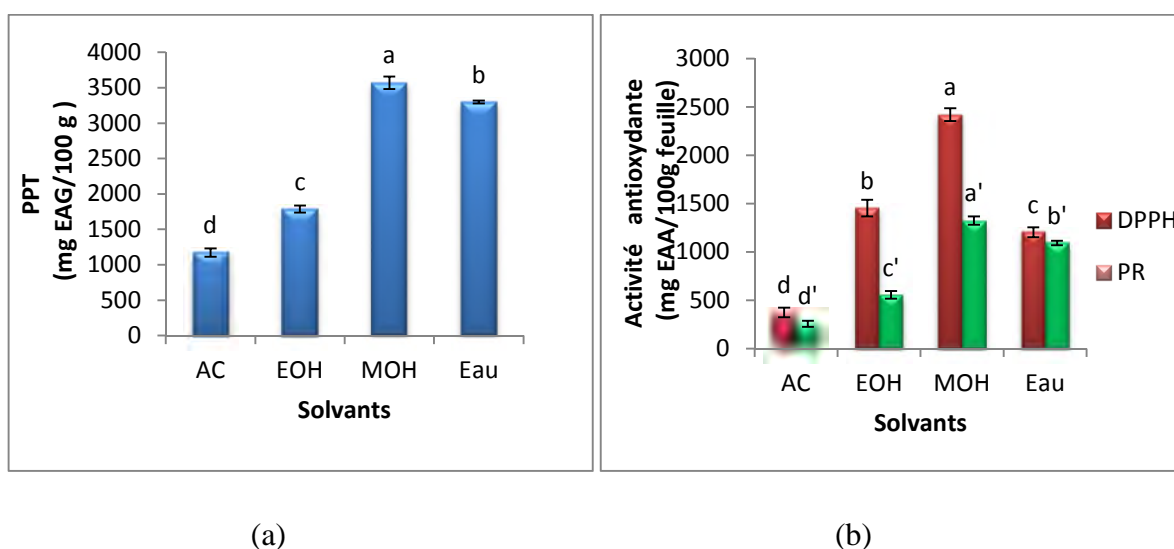
Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols des extraits de *ziziphus jujuba*, trois partie de cette plante ont été choisi (feuille, fruit et graine) ; cinq paramètres ont été étudiés : nature de solvant et sa concentration, rapport solide/liquide, intensité des fréquences ultrasonique et le temps d'extraction. L'évaluation a porté sur la teneur en polyphénols totaux (PPT) et l'étude de son activité antioxydante.

##### III.1.1. OPTIMISATION D'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES DE LA FEUILLE

###### III.1.1.1 LA NATURE DU SOLVANT D'EXTRACTION

###### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

La teneur en composés phénoliques de poudre des feuilles de *Z. jujuba* est significativement affectée par le type de solvant ( $p < 0.05$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différents solvants (Acétone, éthanol, méthanol et eau) sont présentés dans la figure N°18 (a).



**Figure 18 :** (a) : Teneurs en composés phénoliques, (b) : Activité antioxydante des extraits des feuilles obtenus par différents solvants d'extraction respectivement.

Les barres verticales représentent les écarts-types.

Des lettres différentes indiquent des résultats significativement ( $p < 0,05$ ),  $a > b > c > d$

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits du broyat des feuilles de jujubier varient de 1170 mg EAG/100g MS (Acétone) et 3570 mg EAG/100g MS (méthanol).

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

Acétone (624.75 mg EAG/100 g MS) < éthanol (2100 mg EAG/100 g MS) < eau (3297.75mg EAG/100 g MS) < Méthanol (3495 mg EAG/100 g MS).

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante des extraits de *Z.jujuba*. Certains d'entre elles reposent sur la capacité réductrice d'un composé comme un indicateur significatif de son potentiel antioxydant. D'autre reposent sur la mesure de la capacité d'une substance à piéger les composés radicalaires.

Le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits des feuilles de *Z.jujuba* selon les différents solvants d'extraction (méthanol, éthanol, eau et acétone) a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la poudre de feuille dans la figure N°18 (b).

#### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les quatre solvants utilisés, elles ont été classées dans l'ordre suivant: acétone (256.30 mg EAA/100 g MS) puis l'éthanol avec (598.71 mg EAA/100 g MS), suivi par l'eau (1092.26 mg EAA/100 g MS), et à la fin du méthanol avec (1323.60 mg EAA/100 g MS).

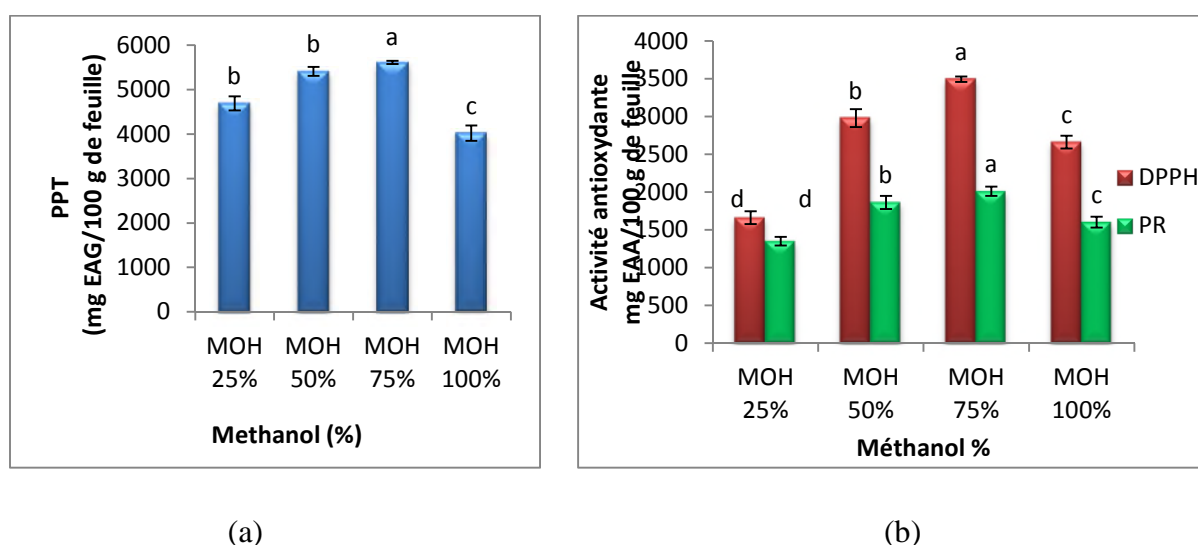
#### • ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

L'étude statistique montre une faible activité anti-radicalaire des feuilles de *Z. jujuba* pour l'acétone avec (373.108 mg EAA/100 g MS) suivi de l'eau (1203.045 mg EAA/100 g MS), l'éthanol (1453.15 mg EAA/100 g MS) et à la fin par le méthanol avec (2419.87 mg EAA/100 g MS) qui présente une activité anti-radicalaire la plus élevé.

### III.1.1.2. CONCENTRATIONS DU SOLVANT D'EXTRACTION

#### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

La teneur en composés phénoliques des feuilles de jujubier est significativement affectée aussi par la concentration du solvant d'extraction ( $p < 0.05$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différentes concentrations du solvant (méthanol 25%, méthanol 50%, méthanol 75%, méthanol 100%) sont présentés dans la figure N°19 (a).



**Figure 19 :** (a) : Teneurs en composés phénoliques, (b) : Activité antioxydante, des extraits des feuilles obtenus par différentes concentrations du méthanol.

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits du broyat des feuilles de jujubier varient de 4023.75 mg EAG/100g MS (méthanol 100%) et 5612.25 mg EAG/100g MS (méthanol 75%).

L'efficacité des concentrations du solvant utilisé (méthanol) pour l'extraction des composés phénoliques présente l'ordre croissant suivant :

Méthanol 100% (4023.75 mg EAG/100 g MS) < méthanol 25% (4692 mg EAG/100 g MS) = méthanol 50% (5412 mg EAG/100 g MS) < méthanol 75 % (5612.25 mg EAG/100 g MS).

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTS

Le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits des feuilles de *Z.jujuba* selon les différentes concentrations du solvant d'extraction (méthanol) a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la matière sèche dans la figure N°19 (b).

### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les différentes concentrations du méthanol, elles ont été classées dans l'ordre croissant suivant: le méthanol 25% (1350,81 mg EAA/100 g MS) < le méthanol 100% (1603,17 mg EAA/100 g MS) < le méthanol 50% avec (1862,77 mg EAA/100 g MS) < le méthanol 75% (2009,98 mg EAA/100 g MS).

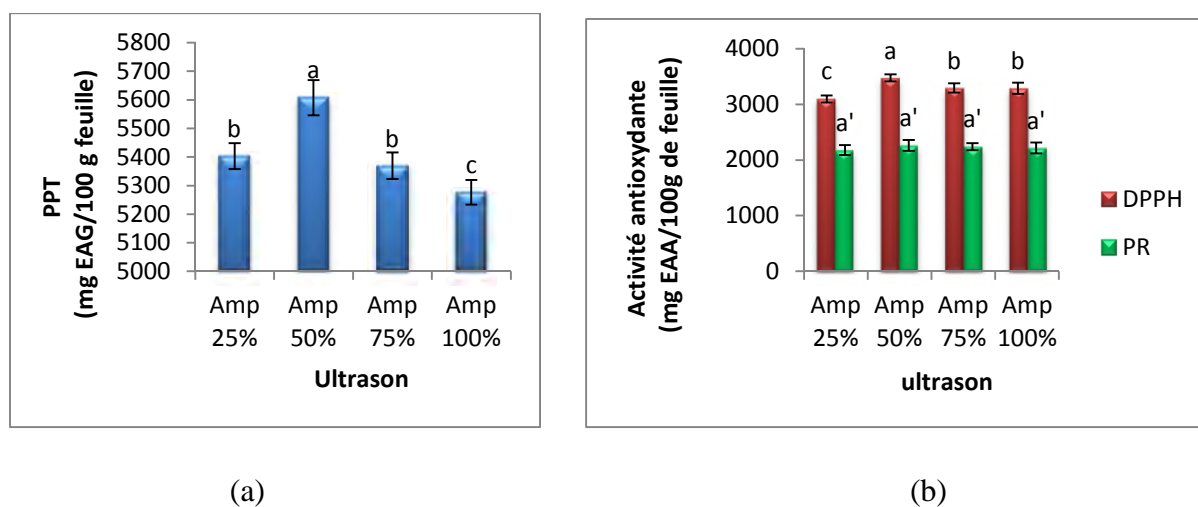
### • ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

L'étude statistique montre une faible activité anti-radicalaire des feuilles de *Z.jujuba* pour le méthanol 25% avec (1660,37 mg EAA/100 g MS) suivi de méthanol 100% (2660,79 mg EAA/100 g MS), méthanol 50% (2979,29 mg EAA/100 g MS), et à la fin par le méthanol 75% (3492,77 mg EAA/100 g MS) qui présente la meilleure activité anti-radicalaire.

#### III.1.1.3. LA PUISSANCE ULTRASONIQUE

##### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

La teneur en composés phénoliques du broyat des feuilles de jujubier est significativement affectée par la puissance ultrasonique ( $p < 0.05$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différentes puissances ultrasoniques sont présentés dans la figure N°20 (a).



**Figure 20 :** influence de la puissance ultrasonique sur la teneur des feuilles de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a), et sur l'Activité antioxydante (b).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de broyat des feuilles de *Z.jujuba* varient de 5214 mg EAG/100 g du broyat (puissance 50%) à 5889 mg EAG/100 g du broyat (puissance 100%).

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que l'extrait brut à puissance ultrasonique 100% avec (5265.75 mg EAG/100 g MS) enregistre le rendement le plus faible, suivi par la puissance 75% avec (5604 mg EAG/100 g MS), la puissance 25% à raison de (5684 mg EAG/100 g MS), et à la fin la puissance 50% (5889 mg EAG/100g MS) qui présente le rendement le plus élevé.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits des feuilles de *Z.jujuba* selon les différentes puissances ultrasoniques a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la matière sèche dans la figure N°20 (b).

##### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les puissances ultrasoniques, elles ont été classées dans l'ordre suivant: la puissance 25% (2178.623 mg EAA/100 g MS) = la puissance 100%( 2203.127 mg EAA/100 g MS)= la puissance 75% avec (2240.4 mg EAA/100 g MS)= la puissance 50% (2264.059 mg EAA/100 g MS) qui présentent une différence non significative.

##### • ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

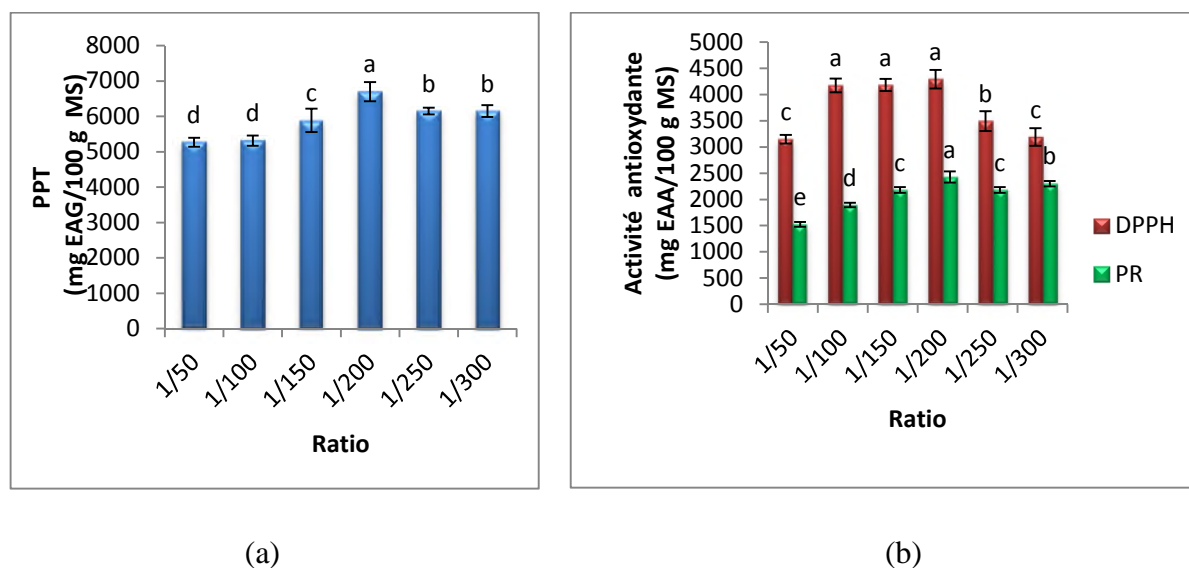
L'étude statistique montre une faible activité anti-radicalaire des feuilles de *Z.jujuba* pour la puissance 25% avec (398.7334 mg EAA/100 g MS) suivi par la puissance 100% (3289.629 mg EAA/100 g MS), la puissance 75% (3293.7124 mg EAA/100 g MS) et à la fin la puissance 50% avec (3475.4209 mg EAA/100 g MS) qui présentent une différence non significative.

## III.1.1.4. RAPPORT SOLIDE / LIQUIDE (RATIO)

## ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

L'effet du rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols de l'extrait des feuilles de *Z. jujuba* a été étudié avec une puissance ultrasonique de 50%, et le méthanol 75% comme solvant d'extraction. Avec les rapports 1/50, 1/100, 1/150, 1/200, 1/250, 1/300.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différents rapports sont présentés dans la figure N°21 (a).



**Figure 21:** influence de rapport solide/liquide sur la teneur des feuilles de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a), et sur l'Activité antioxydante (b).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits des feuilles de *Z.jujuba* varient de 5214 mg EAG/100 g MS (1/300) à 5889 mg EAG/100 g MS (1/200).

Les résultats obtenus pour les extraits, montrent que l'extrait au rapport (1/50) enregistre la teneur la plus faible (5265.75 mg EAG/100 g MS) suivi par le rapport (1/100) : (5313 mg EAG/100 g MS), le rapport (1/150) avec (5888 mg EAG/100 g MS), le rapport (1/250) avec (6152 mg EAG/100 g MS), le rapport (1/300) avec (6153 mg EAG/100 g MS), et à la fin par le rapport (1/200) avec (6699 mg EAG/100g MS).

L'augmentant de rapport solide/liquide, à un effet positif sur l'extraction des polyphénols. En effet, le rapport solide/liquide de 1/200 permet d'extraire le taux le plus élevé. Au-delà de ce rapport, les taux diminuent.



### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTS

Le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits des feuilles de *Z.jujuba* selon les différents rapports solide/liquide (1/50, 1/100, 1/150, 1/200, 1/250, 1/300) a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la matière sèche dans la figure N°21(b).

#### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les rapports solide/liquide, elles ont été classées dans l'ordre suivant: le rapport 1/50 avec (1526,4078 mg EAA/100 g MS) < le rapport 1/100 (1895,2991 mg EAA/100 g MS) < le rapport 1/250 avec (2179.3035 mg EAA/100 g MS) = le rapport 1/150 avec (2180,17733 mg EAA/100 g MS) < le rapport 1/300 avec (2299.3047 mg EAA/100 g MS) < le rapport 1/200 (2426.489 mg EAA/100 g MS).

#### • ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

L'étude statistique montre une faible activité antiradicalaire des feuilles de *Z.jujuba* pour le rapport 1/50 (3147,6001 mg EAA/100 g du broyat), suivi par le rapport 1/300 (3190,8167 mg EAA/100 g du broyat), le rapport 1/250 (3493,7593 mg EAA/100 g du broyat), le rapport 1/100 (4174,1748 mg EAA/100 g du broyat), le rapport 1/150 (4182,5024 mg EAA/100 g du broyat), et à la fin par le rapport 1/200 avec (4293,3667 mg EAA/100 g du broyat).

### III.1.1.5. LE TEMPS D'EXTRACTION

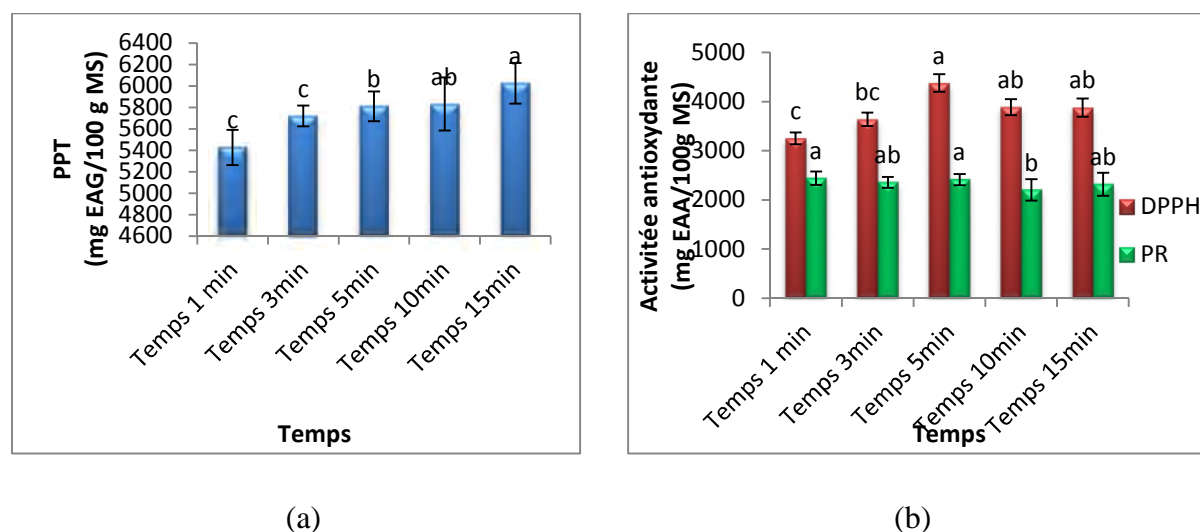
Cette optimisation nous permet de préciser le temps optimum pour un meilleur rendement d'extraction des polyphénols totaux.

### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

L'influence du temps sur l'extraction des polyphénols totaux des extraits des feuilles de *Z.jujuba* est étudiée avec les différents temps de sonication à l'amplitude 50% : 1min ; 3min ; 5min ; 10min ; 15min.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les extraits analysés sont présentés dans la figure N°22 (a). Les valeurs de la concentration correspondant sont exprimées en mg

d'équivalent d'acide gallique par gramme de poudre des feuilles de *Z.jujuba* (mg EAG/100 g MS).



**Figure 22:** influence du temps d'extraction sur la teneur des feuilles de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a), et sur l'activité antioxydante (b).

La prolongation du temps a un effet positif sur le rendement de l'extraction des polyphénols totaux. Le temps d'extraction de 1 min avec (5406 mg EAG/100 g MS) suivi par le temps 3 min avec (5473 mg EAG/100 g MS), le temps 5 min (5629,5 mg EAG/100 g MS), le temps 10 min avec (5832 mg EAG/100 g MS), et à la fin le temps 15 min (6024 mg EAG/100 g MS).

En effet, le temps d'extraction de 15 min permet d'extraire le meilleur taux en polyphénols totaux.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les résultats de pouvoir réducteur et de l'activité antiradicalaire des extraits des feuilles obtenus sous différents temps d'extraction (1 min ; 3 min ; 5 min ; 10 min ; 15 min) sont présentés dans la figure N°22 (b).

##### • POUVOIR REDUCTEUR

Les résultats montrent que tous les extraits présentent des activités antioxydantes considérables. Le temps d'extraction de 3 min présente la plus faible capacité antioxydante

totale de l'ordre de (1855,21 mg EAA/100 g MS) < de l'ordre de (1915,64 mg EAA/100 g MS) = 15 min (2253,31 mg EAA/100 g MS) < 10 min (2337,407 mg EAA/100 g du MS) < 1 min (2743,3989 mg EAA/100 g MS) qui présente la capacité antioxydante la plus élevée.

- **ACTIVITE ANTIRADICALAIRE**

En vue de ces différents résultats de l'étude statistique, les activités antiradicalaire ont été classées dans l'ordre suivant : 1 min (3253,062 mg EAA/100 g MS) < 3 min (3637,100 mg EAA/100 g MS) < le temps 15 min (3875,975 mg EAA/100 g MS) < 10 min (3886,183 mg EAA/100 g MS) < le temps 5 min (4378,225 mg EAA/100 g MS).

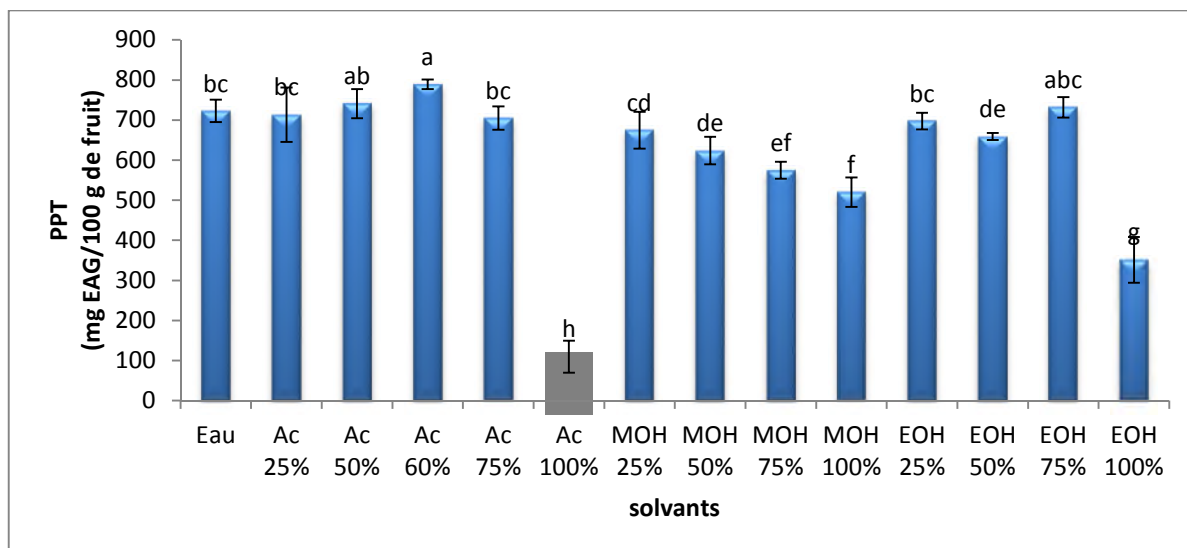
En vue de ces différents résultats de l'étude statistique, le temps d'extraction 5 min apparaît comme le plus doué d'activités antiradicalaires tout en étant riche en polyphénols totaux et avec un haut rendement.

### **III.1.2. OPTIMISATION D'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES DE FRUIT**

#### **III.1.2.1. NATURE ET VOLUME DU SOLVANT D'EXTRACTION**

##### **❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX**

La teneur en composés phénoliques du broyat de jujube est significativement affectée par le type de solvant ( $p < 0.05$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différents solvants à différentes concentrations (Acétone 100%, acétone 75%, acétone 50%, acétone 25%, éthanol 100%, éthanol 75%, éthanol 50%, éthanol 25%, méthanol 100%, méthanol 75%, méthanol 50%, méthanol 25% et eau) sont présentés dans la figure N°23.



**Figure 23 :** Teneurs en composés phénoliques des extraits du fruit de *ziziphus jujuba* obtenus par différents concentrations du solvant d'extraction.

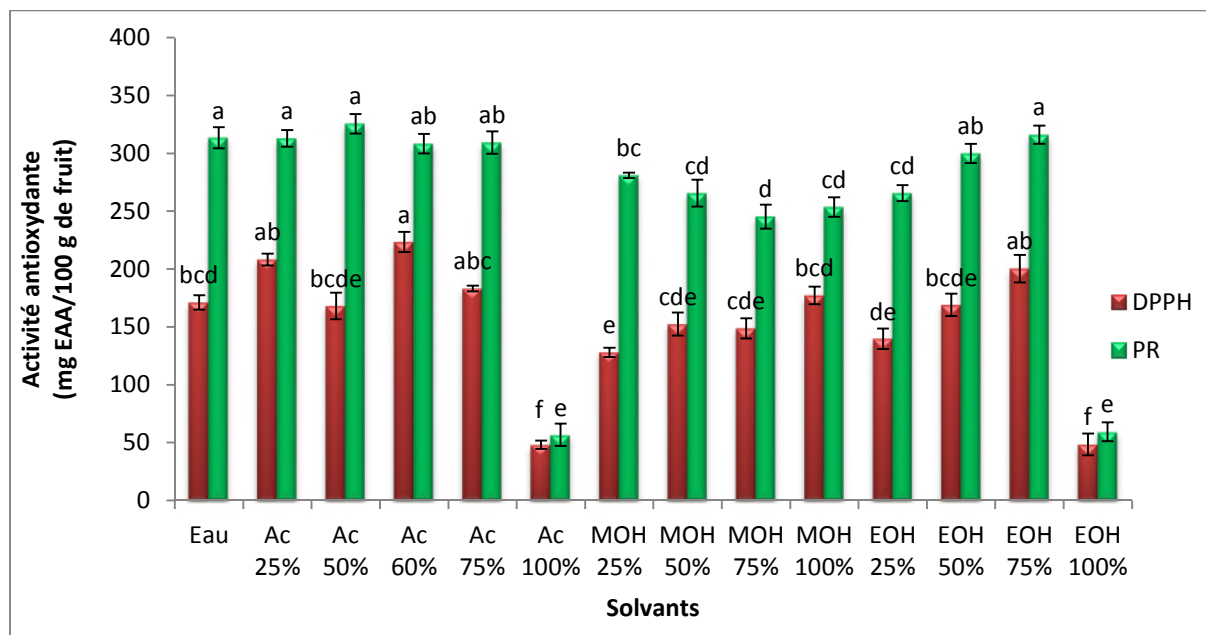
Les teneurs en polyphénols totaux des extraits du broyat de jujube varient de 109.40094 mg EAG/100g du broyat (Acétone 100%) et 789,31422 mg EAG/100g du broyat (Acétone 60%)

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

Acétone 100% (109.40094 mg EAG/100g du fruit) < éthanol 100% (351.032355 mg EAG /100 g du fruit) < méthanol 100% (520.106535 mg EAG/100 g du fruit) < méthanol 75 % (575.03304 mg EAG/100 g du fruit) < éthanol 50% (622.726425 mg EAG/100 g du fruit) = méthanol 50% (623.8566 mg EAG/100g du fruit) < méthanol 25% (674.94051 mg EAG/100g du fruit) < éthanol 25% (697.54401mgEAG/100 g du fruit) = acétone 25% (713.140425mgEAG/100g du fruit) = eau (722.85993mgEAG/100 g du fruit) = acétone 75% (723.312mgEAG/100g du fruit) < éthanol 75% (731.90133mgEAG/100g du fruit) < acétone 50% (741.168765mgEAG/100g du fruit) < Acétone 60% (789.31422 mg EAG/100 g du fruit).

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les résultats de pouvoir réducteur et de l'activité antiradicalaire des extraits de fruit obtenus avec différents solvants d'extraction sont présentés dans la figure 24.



**Figure 24:** pouvoir réducteur et activité antiradicalaire des extraits de fruit de *ziziphus jujuba* obtenus par différents solvants.

#### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrices ont été classées dans l'ordre suivant : Acétone 100% (56,782 mg EAA/100 g du fruit) = éthanol 100% avec (59,345 mg EAA/100 g du fruit) < méthanol 75% (245,267 mg EAA/100 g du fruit) < méthanol 100% avec (253,547 mg EAA/100 g du fruit) = éthanol 25% (265,574 mg EAA/100 g du fruit) = méthanol 50% (265,953 mg EAA/100 g du fruit) < méthanol 25 % (280,953 mg EAA/100g du fruit) < éthanol 50% (299,880 mg EAA/100 g du fruit) = Acétone 60% (300,019 mg EAA/100 g du fruit) = acétone 75% (309,344 mg EAA/100 g du fruit) < Acétone 25 % (312,892 mg EAA/100 g du fruit) = l'eau avec (12,509 mg EAA/100 g du fruit) = éthanol 75 % (4,629 mg EAA /100 g du fruit) = Acétone 50% avec (325,511 mg EAA /100 g du fruit).

#### • ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

activités antiradicalaire des extraits de différentes solvants d'extraction se varient selon l'ordre croissant suivant : Acétone 100% (48,098 mg EAA/100 g du fruit) = éthanol 100% avec (48,400 mg EAA/100 g du fruit) < méthanol 25% (127,965 mg EAA/100 g du fruit) < éthanol 25% avec (139,719 mg EAA/100 g du fruit) < méthanol 75% (148,761 mg EAA/100

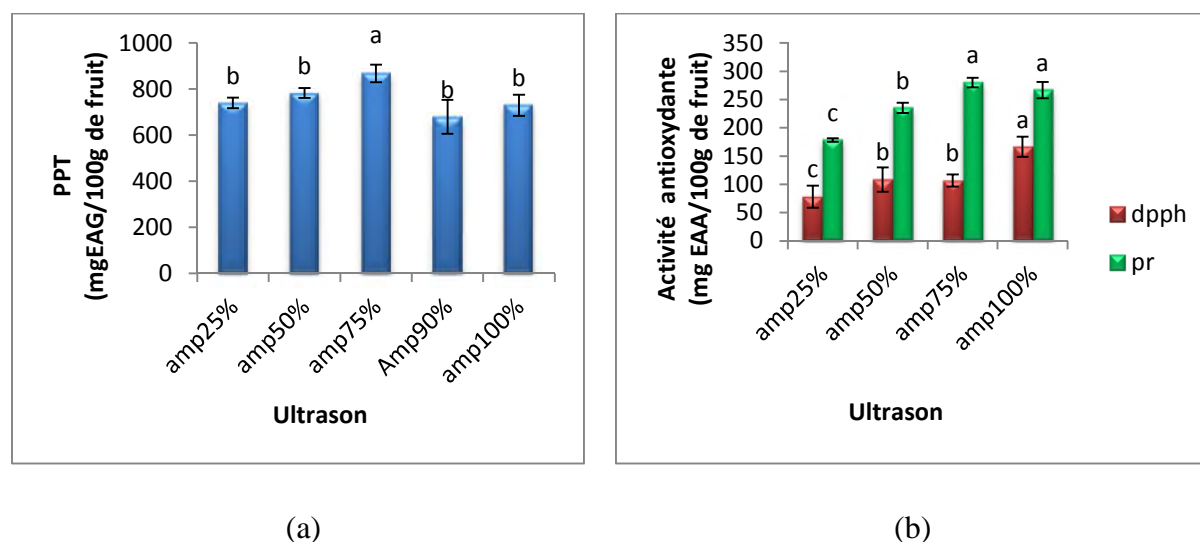
g du fruit) = méthanol 50% (152,377 mg EAA/100 g du fruit) < acétone 50 % (168,049 mg EAA/100g du fruit) = éthanol 50% (168,954 mg EAA/100 g du fruit) < eau avec (171,063 mg EAA/100 g du fruit) = méthanol 100% (177,091 mg EAA/100 g du fruit) < Acétone 75 % (183,089 mg EAA/100 g du fruit) < éthanol 75% (200,298 mg EAA/100 g du fruit) = acétone 25 % (208,134 mg EAA /100 g du fruit) < Acétone 60% avec (223,504 mg EAA /100 g du fruit).

L'étude statistique montre une meilleure activité anti-radicalaire des extraits de fruit de *Z.jujuba* pour l'Acétone 60%.

### III.1.2.2. LA PUISSANCE ULTRASONIQUE

#### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

La teneur en composés phénoliques du broyat de jujube est significativement affectée par la puissance ultrasonique ( $p < 0.05$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différentes puissances ultrasoniques sont présentés dans la figure N°25(a).



**Figure 25 :** influence de la puissance ultrasonique sur la teneur de fruit de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de broyat de jujube varient de 516,947 mg EAG/100 g du broyat (puissance 90 %) à 659,577 mg EAG/100 g du broyat (puissance 75%).

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que l'extrait brut à puissance ultrasonique 90 % avec (516,947 mg EAG/100 g du fruit) enregistre le rendement le plus faible, suivi par les extraits à puissance ,l'extrait à puissance 25 % avec (554,469 mg EAG/100 g du fruit) , l'extrait à puissance 100 % avec (567,128 mg EAG/100 g du fruit), l'extrait à puissance 50% à raison de (575,265 mg EAG/100 g du fruit) qui présentent une différence non significative, et a la fin l'extrait a puissance 75% (659,577 mg EAG/100g du fruit) qui présente le rendement le plus élevé.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits de jujube selon les différentes puissances ultrasoniques a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la matière sèche dans la figure N°25 (b).

##### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les puissances ultrasoniques, elles ont été classées dans l'ordre suivant : la puissance 25% (187,569 mg EAA/100 g du fruit) < la puissance 50 % ( 235,078 mg EAA/100 g du fruit) < la puissance 100% avec (266,724 mg EAA/100 g du fruit) = la puissance 75% (280,060 mg EAA/100 g du fruit).

##### • ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

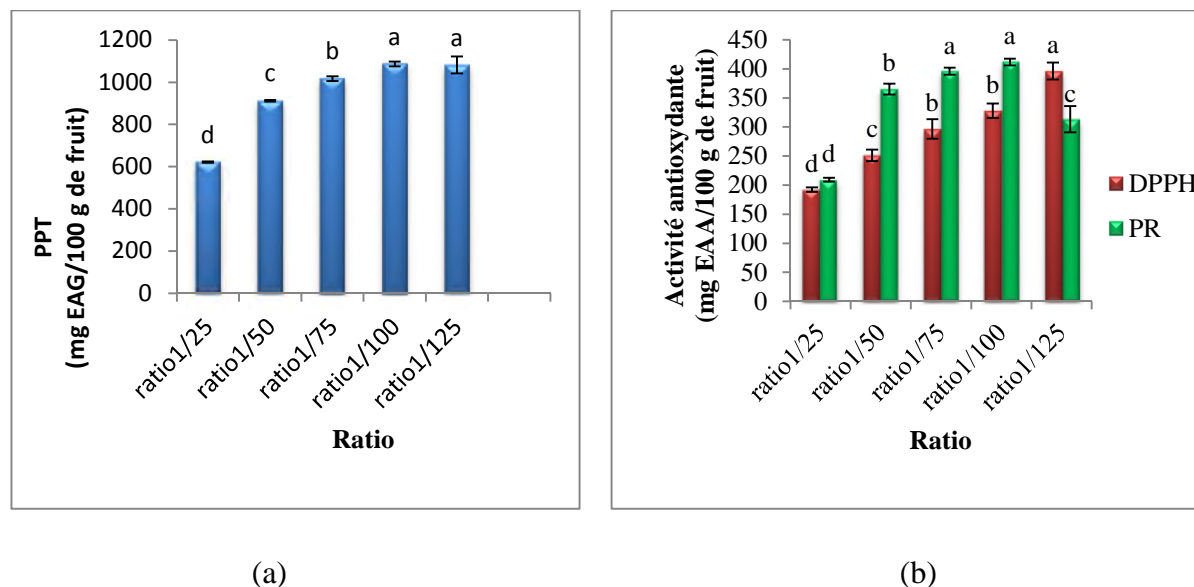
L'étude statistique montre une activité antiradicalaire croissante de jujube : la puissance 25% avec (78,072 mg EAA/100 g du fruit) = 75% (106,691 mg EAA/100 g du fruit) = 50% (108,498 mg EAA/100 g du fruit) qui présentent une différence non significative, et à la fin la puissance 100 % avec (166,338 mg EAA/100 g du fruit).

### III.1.2.3. LE RAPPORT SOLIDE / LIQUIDE (RATIO)

#### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

L'impact du rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols des extraits de fruit de *Z.jujuba* a été étudié avec une puissance ultrasonique de 75%, et l'acétone (60%) comme solvant d'extraction. Avec les rapports 1/25, 1/50,1/75, 1/100, 1/125. Les résultats de dosage

des polyphénols totaux des extraits de différents rapports sont présentés dans la figure N°26 (a).



**Figure 26 :** influence de rapport solide/liquide sur la teneur de fruit de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).

Les résultats montrent que la concentration en polyphénols diminuent lorsqu'il ya plus de matière première par rapport à un volume du solvant donné. Toutefois, le rendement des polyphénols pour le rapport 1/25 (620,805 mg EAG/100 g du fruit) est sensiblement plus faible que les autres rendements tel que les rendements pour le rapport 1/50 (911,925 mg EAG/100 g du fruit) et 1/75 (1016,978 mg EAG/100 g du fruit). Aussi plus faible que les rendements 1/125 avec (1081,574 mg EAG/100 g du fruit) et 1/100 avec (1086,156 mg EAG/100 g du fruit).

En conséquence le rapport 1/100 a été considéré comme appropriés pour obtenir les rendements maximum et il a été conservé pour étudier les autres paramètres d'extraction des polyphénols.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits du fruit *Z.jujuba* selon les différents rapports solide/liquide (1/25, 1/50, 1/75, 1/100, 1/125) a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la matière sèche dans la figure N°26 (b).

#### • POUVOIR REDUCTEUR



Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les rapports solide/liquide, elles ont été classées dans l'ordre suivant: le rapport 1/25 avec (209,186 mg EAA/100 g du fruit) < le rapport 1/250 avec (313,484 mg EAA/100 g du fruit) < le rapport 1/50 avec (364,943 mg EAA/100 g du fruit) < le rapport 1/75 avec (396,100 mg EAA/100 g du fruit) = le rapport 1/100 (411,788 mg EAA/100 g du fruit).

- **ACTIVITE ANTIRADICALAIRE**

L'étude statistique montre une faible activité antiradicalaire du fruit de *Z.jujuba* pour le rapport 1/25 (192,132 mg EAA/100 g du fruit) < 1/50 avec (251,346 mg EAA/100 g du fruit) < 1/75 avec (296,398 mg EAA/100 g du fruit) = le rapport 1/100 (327,910 mg EAA/100 g du fruit) < 1/125 avec (396,202 mg EAA/100 g du fruit).

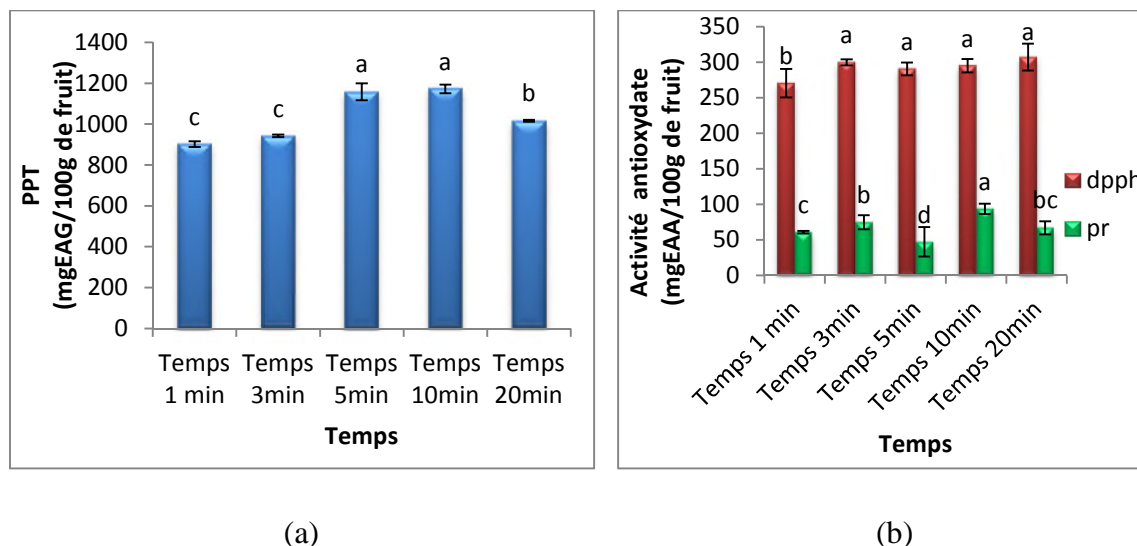
#### III.1.2.4. LE TEMPS D'EXTRACTION

Cette optimisation nous permet de préciser le temps optimum pour un meilleur rendement d'extraction des polyphénols totaux.

#### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

L'influence du temps sur l'extraction des polyphénols totaux des extraits de fruit de *Z.jujuba* est étudiée avec les différents temps de sonication à l'amplitude 50% : 1min ; 3min ; 5min ; 10min et 15min.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les extraits analysés sont présentés dans la figure N°27 (a). Les valeurs de la concentration correspondant sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme du broyat de fruit de *Z.jujuba* (mg EAG/100 g du fruit).



**Figure 27** : influence du temps d'extraction sur la teneur du fruit de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).

La prolongation du temps a un effet positif sur l'extraction. En effet, le temps d'extraction de 1 min avec (901,513 mg EAG/100 g du fruit) présente la plus faible teneur d'extraction des polyphénols suivi par le temps 3 min (942,193 mg EAG/100 g du fruit) < le temps 20 min < (1016,773 mg EAG/100 g du fruit) < le temps 5 min avec (1158,295 mg EAG/100 g du fruit) < le temps 10 min (1172,307 mg EAG/100 g du fruit) permet d'extraire le meilleur taux en polyphénols totaux.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les résultats de pouvoir réducteur et de l'activité antiradicalaire des extraits de fruit obtenus sous différents temps d'extraction (1 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min) sont présentés dans la figure N°27 (b).

##### • POUVOIR REDUCTEUR

Les résultats montrent que tous les extraits présentent des activités antioxydantes considérables, Les trois extraits de 5 min, 1 min et 20 min révèlent une activité réductrice de l'ordre de (363,168 mg EAA/100 g du fruit) = (368,097 mg EAA/100 g du fruit) = (371,449 mg EAA/100 g du fruit) = (371,449 mg EAA/100 g du fruit) respectivement, suivi par le temps 3 min avec (399,248 mg EAA/100 g du fruit), et Le temps d'extraction de 10 min

présente la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de (422,178 mg EAA/100 g du fruit).

- **ACTIVITE ANTIRADICALAIRE**

En vue de ces différents résultats de l'étude statistique, les activités antiradicalaire ont été classées dans l'ordre suivant : le temps 1 min avec (270,343 mg EAA/100 g du fruit) = 3 min avec (299,578 mg EAA/100 g du fruit) = le temps 20 min avec (307,112 mg EAA/100 g du fruit) < le temps 15 min (340,265 mg EAA/100 g du fruit) < le temps 10 min (355,334 mg EAA/100 g du fruit).

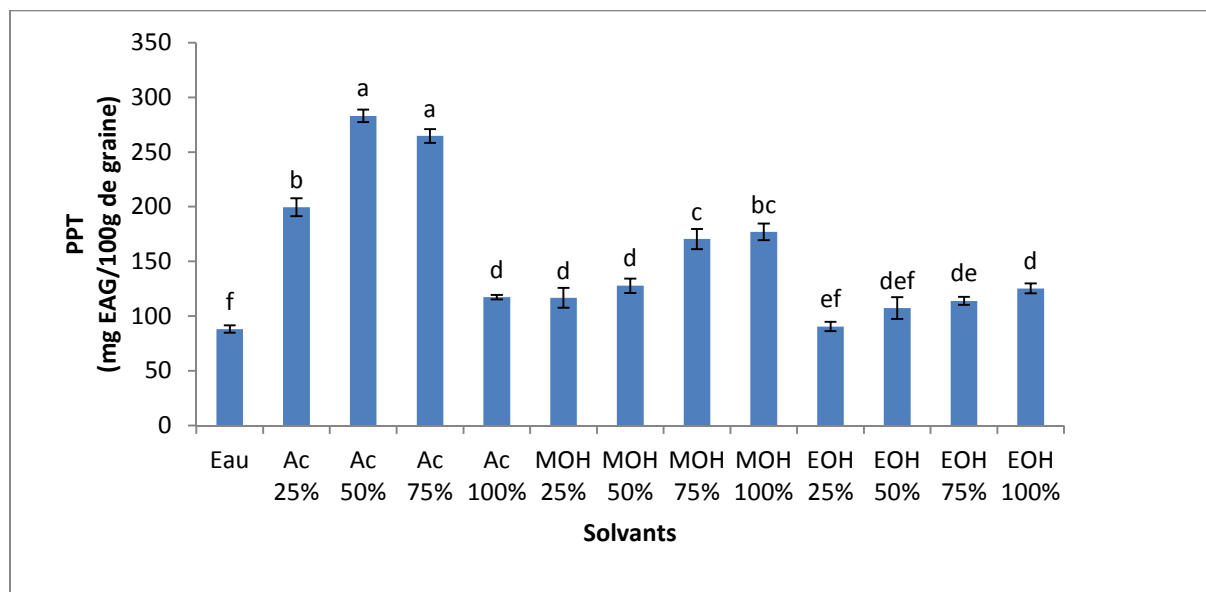
Les temps d'extraction 10 min et 15 min apparaissent comme les plus doués d'activité antiradicalaire tout en étant riches en polyphénols totaux et avec un haut rendement.

### **III.1.3. OPTIMISATION D'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES DE LA GRAINE**

#### **III.1.3.1. NATURE ET VOLUME DU SOLVANT D'EXTRACTION**

##### **❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX**

La teneur en composés phénoliques du broyat de la graine du jujubier est significativement affectée par le type de solvant ( $p < 0.05$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différents solvants à différentes concentrations (Acétone 100%, acétone 75%, acétone 50%, acétone 25%, éthanol 100%, éthanol 75%, éthanol 50%, éthanol 25%, méthanol 100%, méthanol 75%, méthanol 50 %, méthanol 25% et eau) sont présentés dans la figure N°28.



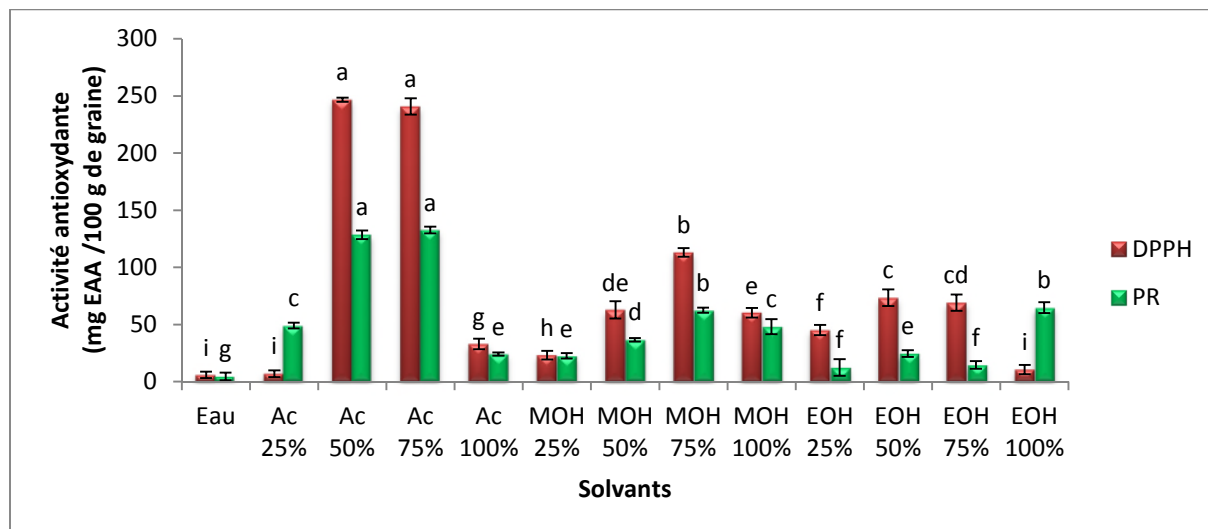
**Figure 28 :** Teneurs en composés phénoliques des extraits de graines de *ziziphus jujuba* obtenus par différents concentrations du solvant d'extraction.

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits du broyat de jujube varient de 88,139 mg EAG/100g du broyat (Eau) à 283,065 mg EAG/100g du broyat (Acétone 50%)

L'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques à partir du broyat de graine de *Z.jujuba* présente l'ordre croissant suivant :

Eau (88,139 mg EAG /100 g du broyat ) < éthanol 25%(90,400 mg EAG/100 g du broyat ) < éthanol 25%(90,400 mg EAG/100 g du broyat ) < éthanol 25%(90,400 mg EAG/100 g du broyat ) < éthanol 25%(90,400 mg EAG/100 g du broyat ) < éthanol 50 %(107,349 mg EAG/100 g du broyat) < éthanol 75 %(113,903 mg EAG/100 g du broyat) < 25%(116,728 mg EAG/100g du broyat) < méthanol 25%(116,728 mg EAG/100g du broyat) < Acétone 100% (117,293 mg EAG/100g du broyat) = éthanol 100% (125,317 mg EAG/100 g du broyat)= méthanol 50 % (127,690 mg EAG/100g du broyat) < méthanol 75 % (170,404 mg EAG/100 g du broyat) < méthanol 100 % (176,957 mg EAG/100g du broyat) < Acétone 25 % (199,557 mg EAG/100g du broyat) < acétone 75%(264,759 mg EAG/100g du broyat)=Acétone 50% (283,065 mg EAG/100 g du broyat).

## ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE



**Figure 29:** pouvoir réducteur et activité antiradicalaire des extraits de graine de *ziziphus jujuba* obtenus par différents solvants.

- **POUVOIR REDUCTEUR**

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les solvants utilisés, elles ont été classées dans l'ordre suivant: Eau avec (4,629 mg EAA /100 g du broyat) < éthanol 25% (12,509 mg EAA/100 g du broyat) = éthanol 75 % (14,676 mg EAA/100 g du broyat) < méthanol 25% (22,556 mg EAA/100 g du broyat ) = Acétone 100% (24,231 mg EAA/100 g du broyat ) = éthanol 50% (24,625 mg EAA/100 g du broyat ) < méthanol 50% (36,641 mg EAA/100g du broyat) < méthanol 100% (48,166 mg EAA/100 g du broyat) = Acétone 25% (49,053 mg EAA/100 g du broyat) < méthanol 75% avec (62,645 mg EAA/100 g du broyat) = éthanol 100% (64,714 mg EAA/100 g du broyat) < Acétone 50% avec (128,444 mg EAA/100 g du broyat) = acétone 75% (132,580 mg EAA/100 g du broyat).

- **ACTIVITE ANTIRADICALAIRE**

activités antiradicalaire des extraits de différentes solvants d'extraction se varient selon l'ordre croissant suivant : eau avec (5,966 mg EAA/100 g du broyat) = Acétone 25 % (7,021 mg EAA/100 g du broyat) = éthanol 100% (10,637 mg EAA/100 g du broyat) < méthanol 25% (23,295 mg EAA/100 g du broyat) < Acétone 100% (33,090 mg EAA /100 g du broyat) < éthanol 25 % (45,146 mg EAA /100 g du broyat) < méthanol 100% (60,366 mg EAA/100 g

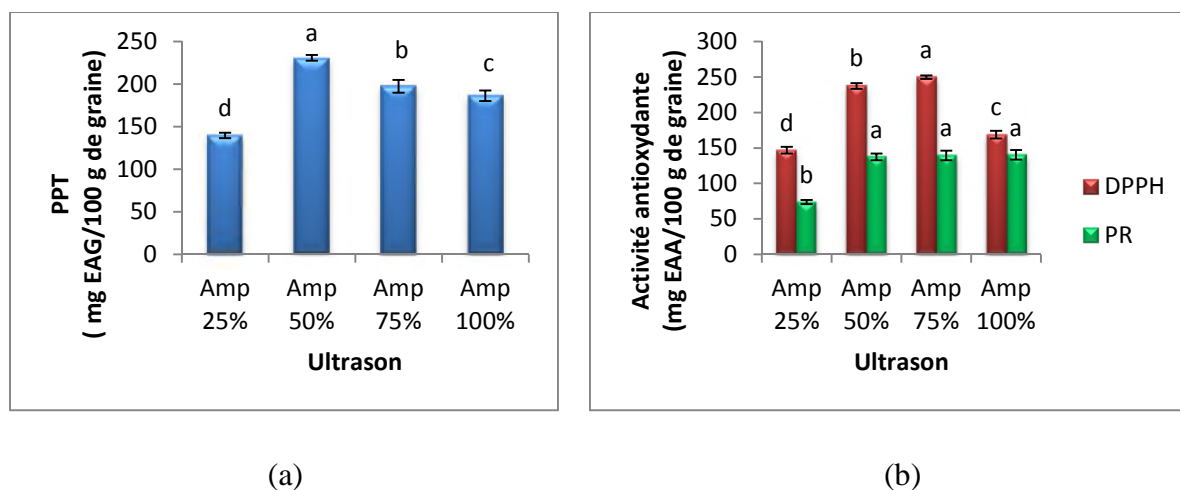
du broyat) < méthanol 50% (62,928 mg EAA/100 g du broyat) < éthanol 75 % (69,257 mg EAA/100 g du broyat) < éthanol 50% (73,476 mg EAA/100 g du broyat) < méthanol 75% (113,259 mg EAA/100 g du broyat) < Acétone 75% (255,362 mg EAA/100 g du broyat) = Acétone 50 % avec (258,828 mg EAA/100 g du broyat).

L'étude statistique montre une meilleure activité antiradicalaire des extraits de graine de *Z.jujuba* pour l'Acétone 50%.

### III.1.3.2. LA PUISSANCE ULTRASONIQUE

#### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

La teneur en composés phénoliques de la graine de *Z.jujuba* est significativement affectée par la puissance ultrasonique ( $p < 0.05$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différentes puissances ultrasoniques sont présentés dans la figure N°30 (a).



**Figure 30 :** influence de la puissance ultrasonique sur la teneur de la graine de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de graine de *Z.jujuba* varient de 139,781 mg EAG/100 g du broyat (puissance 25 %) à 230,972 mg EAG/100 g du broyat (puissance 50%).

Les résultats obtenus pour les extraits montrent que l'extrait à puissance ultrasonique 25% enregistre le rendement le plus faible avec (139,781 mg EAG/100 g du broyat) suivi par l'extrait à puissance 100 % avec (186,449 mg EAG/100 g du broyat), l'extrait à puissance

75% à raison de (197,636 mg EAG/100 g du broyat), et l'extrait 50% (230,972 mg EAG/100g du broyat) qui présente le rendement le plus élevé.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Le pouvoir réducteur et l'activité anti-radicalaire des extraits de graine de *Z. jujuba* selon les différentes puissances ultrasoniques a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la matière sèche dans la figure N°30 (b).

##### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les puissances ultrasoniques, elles ont été classées dans l'ordre croissant suivant : la puissance 25% (84,941 mg EAA/100 g du broyat) < la puissance 50 % ( 137,420 mg EAA/100 g du broyat) = la puissance 75% avec (139,392 mg EAA/100 g du broyat) = la puissance 100% (140,377 mg EAA/100 g du broyat).

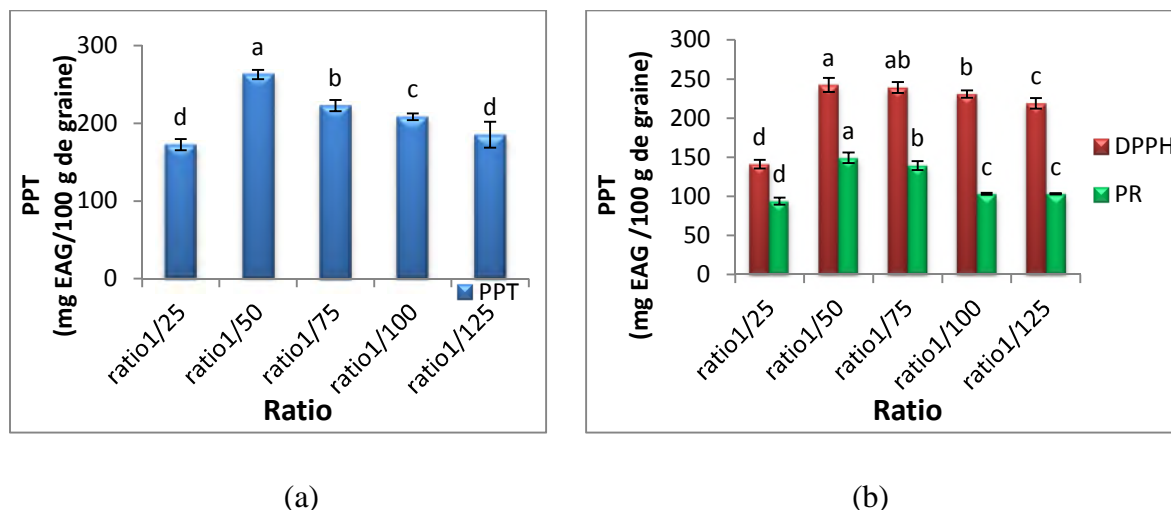
##### • ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

L'étude statistique montre une faible activité antiradicalaire de graine de *Z.jujuba* pour la puissance 25% avec (146,713 mg EAA/100 g du broyat) suivi par la puissance 100% (168,714 mg EAA/100 g du broyat), la puissance 50% (237,580 mg EAA/100 g du broyat) et à la fin la puissance 75 % avec (249,786 mg EAA/100 g du broyat) qui présente la meilleure activité antiradicalaire.

#### III.1.3.3. RAPPORT SOLIDE / LIQUIDE (RATIO)

#### ❖ DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

L'impact du rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols des extraits de fruit de *Z.jujuba* a été étudié avec une puissance ultrasonique de 75%, et l'acétone 60% comme solvant d'extraction. Avec les rapports 1/25, 1/50, 1/75, 1/100, 1/125. Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits de différents rapports sont présentés dans la figure N°31 (a).



**Figure 31** : influence de rapport solide/liquide sur la teneur de la graine de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).

Les résultats montrent que la concentration en polyphénols diminuent lorsqu'il ya plus de matière première par rapport à un volume du solvant donné. Toutefois, le rendement des polyphénols pour le rapport 1/25 (172,535 mg EAG/100 g du broyat) = 1/125 avec (185,343 mg EAG/100 g du broyat ) est plus faible que les autres teneurs tel que les teneurs pour le rapport 1/100 (208,575 mg EAG/100 g du broyat) , 1/75 (222,803 mg EAG/100 g du broyat) et le rapport 1/50 (262,950 mg EAG /100 g du broyat).

En conséquence le rapport 1/50 a été considéré comme appropriés pour obtenir les rendements maximum et il a été conservé pour étudier les autres paramètres d'extraction des polyphénols.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Le pouvoir réducteur et l'activité antiradicalaire des extraits de graine de *Z.jujuba* selon les différents rapports solide/liquide (1/25, 1/50, 1/75, 1/100, 1/125) a été exprimée en termes de mg EAA/100 g de la matière sèche dans la figure N°31 (b).

#### • POUVOIR REDUCTEUR

Sur la base des résultats on a remarqué que les propriétés réductrice se varient entre les rapports solide/liquide, elles ont été classées dans l'ordre suivant : Le rapport 1/25 avec (93,939 mg EAA/100 g du broyat) < le rapport 1/125 avec (103,277 mg EAA/100 g du broyat



) = le rapport 1/100 avec (103,306 mg EAA/100 g du broyat) < le rapport 1/75 avec (139,296 mg EAA/100 g du broyat) < le rapport 1/50 (149,289 mg EAA/100 g du broyat).

- **ACTIVITE ANTIRADICALAIRE**

L'étude statistique montre une faible activité antiradicalaire de graine de *Z.jujuba* pour le rapport 1/25 (141,273 mg EAA/100 g du broyat) < 1/125 avec (219,079 mg EAA/100 g du broyat) < 1/100 avec (230,678 mg EAA/100 g du broyat) < le rapport 1/75 (239,123 mg EAA/100 g du broyat) < 1/50 avec (242,553 mg EAA/100 g du broyat).

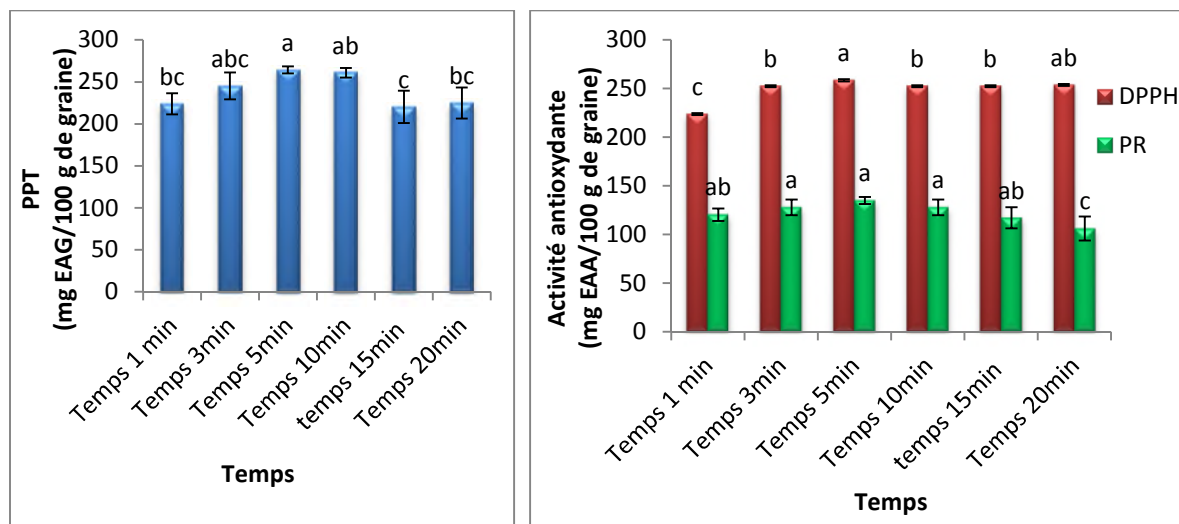
#### III.1.3.4. LE TEMPS D'EXTRACTION

Cette optimisation nous permet de préciser le temps optimum pour un meilleur rendement d'extraction des polyphénols totaux.

- ❖ **DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX**

L'influence du temps sur l'extraction des polyphénols totaux des extraits de graine de *Z.jujuba* est étudiée avec les différents temps de sonication à l'amplitude 50% : 1min ; 3min ; 5min ; 10min ; 15min.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les extraits analysés sont présentés dans la figure N°32 (a). Les valeurs de la concentration et de l'écart-type correspondant sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme du broyat de la graine de *Z.jujuba* (mg EAG/100 g du broyat).



(a)

(b)

**Figure 32:** influence du temps d'extraction sur la teneur des graines de *ziziphus jujuba* en polyphénols totaux (a) et sur l'activité antioxydante (b).

Le temps d'extraction de 15 min avec (220,123 mg EAG/100 g du broyat) < 1 min avec (223,966 mg EAG/100 g MS) = 20 min avec (224,869 mg EAG/100 g du broyat) < le temps 3 min (245,097 mg EAG/100 g MS) < 10 min avec (260,916 mg EAG/100 g du broyat) < 5min (264,307mg EAG/100 g du broyat) qui a permet d'extraire le taux le plus élevé en polyphénols totaux.

#### ❖ ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les résultats de pouvoir réducteur et de l'activité antiradicalaire des extraits de graine de *Z.jujuba* obtenus sous différents temps d'extraction (1 min, 3 min, 5 min, 10 min et 15 min) sont présentés dans la figure N°32 (b).

#### • POUVOIR REDUCTEUR

Les résultats montrent que tous les extraits présentent des activités antioxydantes considérables. Le temps d'extraction de 20 min présente la plus faible activité antioxydante de l'ordre de (106,059 mg EAA /100 g du broyat), suivi de temps 15 min (117,310 mg EAA/100 g du broyat), 1 min (120,366 mg EAA/100 g du broyat), 10 min avec (127,956 mg

EAA/100 g du broyat), 3 min avec (127,956 mg EAA/100 g du broyat), et a la fin 5 min (134,857 mg EAA/100 g du broyat) qui présente une meilleure capacité antioxydante .

- **ACTIVITE ANTIRADICALAIRE**

En vue de ces différents résultats de l'étude statistique, les activités antiradicalaires ont été classées dans l'ordre suivant : le temps 1 min avec (223,716 mg EAA/100 g du broyat), suivi par le temps 3 min avec (252,499 mg EAA/100 g du broyat), 15 min avec (252,499 mg EAA/100 g du broyat), 10 min avec (252,499 mg EAA/100 g du broyat), 20 min (253,704 mg EAA/100 g du broyat), et a la fin par le temps 5 min (258,526 mg EAA/100 g du broyat).

Le temps d'extraction 5 min apparait comme le plus doué d'activité antiradicalaire tout en étant riches en polyphénols totaux.

### III.2. DISCUSSION

Dans la première partie de cette étude, quatre solvants de polarité croissante ont été employés pour l'extraction des composés phénoliques à partir des trois parties de *Ziziphus jujuba*, à savoir l'éthanol (polarité de 5.2), l'acétone (polarité de 5.4), le méthanol (polarité de 6.6) et l'eau (polarité de 9.0). (**Bourgou et al., 2016**)

Le choix du solvant est conditionne par le caractère polaire des composés phénoliques identifiés dans les trois partie de *Z.jujuba* pour les raisons suivants : La solubilité des polyphénols est étroitement liée au degré de polymérisation en raison de l'augmentation de nombre de groupe hydroxyles –OH. (**Savova, M et al., 2007**). N'importe quel solvant donné extrairait seulement les composés qui ont une polarité similaire (**Zhang et autres 2007**).

**Hayat et al. (2010)** ont rapporté l'efficacité du méthanol (66%) pour libérer et séparer les composés phénoliques des écorces de mandarine.

. Selon **chaalal et al. (2013)** l'acétone est le solvant approprié pour l'extraction des polyphénols à partir de figue de barbarie. En outre **Benchikh et Louailèche. (2014)** ont montré que l'acétone (70%) est le plus efficace pour l'extraction des polyphénols totaux de la pulpe de caroube.

Les grandes teneurs de polyphénols des extraits de graine du *Z.jujuba* est obtenue avec l'acétone 50%. Des résultats similaires ont été obtenus par **Chaalal et al. (2012)** qui ont observé que l'acétone permet l'extraction la plus élevé des composés phénoliques à partir des

graines de figue de barbarie. En outre, **Al-Farsi et Lee (2008)** ont également rapporté que l'acétone 50% était le solvant le plus efficace pour l'extraction phénolique à partir des graines de datte.

La dilution des solvants avec l'eau distillé a augmenté de façon remarquable leurs pouvoirs extractants, ainsi leurs capacités antioxydantes. Ces résultats sont en accord avec plusieurs auteurs, (**Mohammedi et Atik., 2011 ; Trabelsi et al., 2012 et Bourgou S et al., 2016**) qui ont montrés que l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un fort enrichissement des extraits en polyphénols avec une meilleure capacité antioxydante. La supériorité des solvants mixtes seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à ceux obtenus par des solvants purs

Selon **Altemimi et al. (2015)** La puissance ultrasonique optimisée pour l'extraction des polyphénols totaux à partir des feuilles d'épinard est de 50%. En outre, **Golmohamadi et al. (2013) et Cheok et al., (2013)** ont montré que la teneur maximale des composés phénoliques a été extraite avec une puissance ultrasonique de 80% à partir des coques de mangoustan.

Ces résultats prouvent que l'effet ultrasonique est plus efficace en améliorant l'extraction des composés phénoliques, ce qui conduit à une augmentation de rendement d'extraction et cela est dû aux phénomènes des bulles de cavitations produites par des ondes sonores dans un milieu liquide. (**Xu et al., 2013**).

Ces bulles peuvent faciliter la pénétration du solvant dans la matière végétale crue ou le matériel intracellulaire pour améliorer le transfert de matière. (**Liu et al., 2015**)

Une puissance ultrasonique plus élevée pourrait endommager des parois des cellules libérant plus d'antioxydants comprenant les composés phénoliques par le solvant d'extraction. L'augmentation du rendement d'extraction d'acide rosmarinique à partir du romarin sec avec l'augmentation de la puissance ultrasonique également a été rapportée par **Paniwnyk et al. (2009)**.

Le volume de solvant doit être suffisant pour s'assurer que la matrice solide demeure entièrement immergée dans le solvant. Toutefois, un ratio plus élevé peut entraîner la baisse du rendement, ceci est probablement dû à une agitation insuffisante du solvant (**Eskilsson et al., 1999**).

Nos résultats prouvent que le rapport solide/liquide affecte l'efficacité d'extraction. Ces résultats sont compatibles avec le principe du transfert de la matière, où la force de transmission durant ce transfert est le gradient de la concentration de soluté entre le solide et le liquide. Cette force devient importante lorsque la fraction solide/liquide utilisé est plus élevé (Al farsi et Lee., 2007 ; Benchikh et Louailèche., 2014).

Selon Pinelo et al. (2005), la concentration la plus élevée de composé phénolique et la meilleure capacité antiradicalaire ont été obtenues quand un bas rapport solide/liquide est employé.

Les résultats de notre travail ont montré que la durée d'extraction a un effet significative sur le rendement en polyphénols totaux et l'activité antioxydante des extraits de feuille et fruit de *Z.jujuba* d'où la prolongation du temps d'extraction fait accroître leur rendement d'extraction. Des résultats similaires ont été obtenus par plusieurs auteurs (Chirinos et al., 2007 ; Drużyńska et al., 2007 ; Silva et al., 2007 et Telli, et al., 2010). Alors que les résultats de Chaalal, Touati et Louailèche. (2012) ont indiqué qu'un temps excessif n'est pas utile pour extraire plus de composés phénoliques à partir des graines de figue de Barbarie. Aussi selon Benchikh et Louailèche. (2014), le temps excessif d'extraction n'était pas utile pour extraire les composés phénoliques à partir des pulpes de caroube.

Les conditions optimales d'extraction de polyphénols totaux qui sont accompagné d'une activité antioxydante élevée de trois parties de *Z.jujuba* sont :

- ❖ Pour les feuilles : le méthanol 75%, la puissance ultrasonique (50%), le ratio (1/200), et 15 min comme temps d'extraction.
- ❖ Pour les fruits le choix été : le solvant Acétone (60%), puissance ultrasonique (75%), le ratio (1/100), et pendant un temps d'extraction de 10 min.
- ❖ Pour les graines les conditions optimales obtenus : le solvant Acétone (50%), la puissance ultrasonique (50%) avec un ratio de (1/50) pendant une durée d'extraction de 5min.

Ces différents choix de conditions sont sélectionnés pour les raisons suivants : Permet d'obtenir les meilleurs rendements en composés phénoliques ; une forte activité réductrice ; une activité anti-radicalaire plus élevées.

## CONCLUSION

Pour une extraction efficace et optimale des composés phénoliques et l'évaluation de leur activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité anti-radicalaire DPPH) de trois parties de *Ziziphus jujuba* (feuille, fruit et graine), la technique d'extraction assistée aux ultrasons a été utilisée. Cinq facteurs ont été optimisés à savoir le type de solvant (acétone, méthanol, éthanol et eau) à ces différentes concentrations (25%, 50%, 75%, 100%), la puissance ultrasonique (25%, 50%, 75%, 100%), le rapport solide/liquide (ratio) (1/25, 1/50, 1/75, 1/100, 1/125, 1/150, 1/200, 1/250, 1/300), ainsi que le temps d'extraction (1min, 3min, 5min, 10min, 15min, 20min). avec un degré de signification des données qui a été pris à la probabilité  $P < 0,05$ .

D'après notre étude d'optimisation certaines conclusions s'imposent :

Pour la feuille : le meilleur solvant d'extraction est le méthanol (75%), la puissance ultrasonique (50%), avec un rapport solide/liquide (1/200) pendant un temps d'extraction de 15 min. La teneur en polyphénols totaux sous ces conditions est 5889 mg EAG/100 g MS, le pouvoir réducteur est 2426,489 mg EAA/100 g MS et l'activité antiradicalaire est 4293,3667 mg EAA/100 g MS.

\_ Pour le fruit le choix des conditions a été : l'acétone 60% comme meilleur solvant d'extraction, la puissance ultrasonique (75%), le rapport solide/liquide (1/100), pendant une durée d'extraction de 10min. La teneur en polyphénols totaux sous ces conditions est 1172,307 mg EAG/100 g du fruit, le pouvoir réducteur est 422,178 mg EAA/100 g du fruit et l'activité antiradicalaire est 355,33 mg EAA/100 g du fruit.

\_ Pour la graine les résultats d'optimisation menés à choisir l'acétone (50%) comme solvant d'extraction, avec une puissance ultrasonique (50%), le rapport solide/liquide (1/50 et 5min comme temps optimal d'extraction. La teneur en polyphénols totaux sous ces conditions est 264,307mg EAG/100 g de graine, le pouvoir réducteur est 134,857 mg EAA/100 g de graine) et l'activité antiradicalaire est 258,526 mg EAA/100 g de graine.

À ces conditions, l'extraction révèle les meilleurs rendements en polyphénols totaux accompagnée d'une forte capacité antioxydante.

D'autres paramètres qui ne sont pas étudiés dans ce travail et qui ont une influence sur le rendement d'extraction, peuvent servir de perspectives pour optimiser au mieux l'extraction en vue de son utilisation à l'échelle industrielle. D'autres critères peuvent être ajoutés en plus du rendement en polyphénols totaux, tels que les différentes familles de polyphénols et les différentes activités biologiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

“A”

- ❖ Al-Farsi, M. A. and Lee, C.Y. (2008). "Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds." *Food Chemistry* **108**(3): 977-985.
- ❖ Altemimi, A., Choudhary, R., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2015). Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrasonics sonochemistry*, *24*, 247-255.
- ❖ Azam-Ali S., Bonkougou E., Bowe C., Dekock C., Godara A., Williams J.T., 2006- Ber and other jujubes SO17 1BJ, UK. Centre for Underutilised Crops, 289 P.

« B »

- ❖ Baborun, T. (1998, March). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (p. 83).
- ❖ Beaudoux, J. L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., & Peynet, J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, *21*(3), 144-150.
- ❖ Beckman, K. B. and Ames, B.N. (1998). "The free radical theory of aging matures." *Physiological reviews* **78**(2): 547-581.
- ❖ Beecher, G. R. (2003). "Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake." *The Journal of nutrition* **133**(10): 3248S-3254S.
- ❖ Benchikh, Y. and 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* **161**(2): 175-181.
- ❖ Björklund, E., Nilsson, T., & Bøwadt, S. (2000). Pressurised liquid extraction of persistent organic pollutants in environmental analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *19*(7), 434-445.

- ❖ Boizot, N. and Charpentier, J-P. (2006). "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier." Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques: 79-82.
- ❖ Bourgou, S., Serairi, B. R., Medini, F., Ksouri, R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new sciences*, 28(12).

### « C »

- ❖ Carr, A. C., Zhu, B. Z., & Frei, B. (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E). *Circulation research*, 87(5), 349-354.
- ❖ Chaalal, M., Louaileche, H., Touati, N., & Bey, M. B. (2013). Phytochemicals, in vitro antioxidant capacity and antiradical potential of whole and ground seeds of three prickly pear varieties: a comparative study. *Industrial Crops and Products*, 49, 386-391.
- ❖ Chaalal, M., Touati, N., & Louaileche, H. (2012). Extraction of phenolic compounds and in vitro antioxidant capacity of prickly pear seeds. *Acta Botanica Gallica*, 159(4), 467-475.
- ❖ Chanforan, C. (2010). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation: études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate, Avignon.
- ❖ Chen, K., Suh, J., Carr, A. C., Morrow, J. D., Zeind, J., & Frei, B. (2000). Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 279(6), E1406-E1412.
- ❖ Cheok, C. Y., Chin, N. L., Yusof, Y. A., Talib, R. A., & Law, C. L. (2013). Optimization of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) extractions



- from mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) hull using ultrasonic treatments. *Industrial Crops and Products*, 50, 1-7.
- ❖ Chew, Y. L., Goh, J. K., & Lim, Y. Y. (2009). Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, 116(1), 13-18.
  - ❖ Cheynier, V., Souquet, J. M., Fulcrand, H., Sarni, P., & Moutounet, M. (1998, July). Stabilisation tanins-anthocyanes, données générales. In *Workshop ITV*.
  - ❖ Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
  - ❖ Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R., & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55(2), 217-225.
  - ❖ Chu, W. L., Lim, Y. W., Radhakrishnan, A. K., & Lim, P. E. (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 53.
  - ❖ Cicile, J.-C. (2001). "Distillation. Absorption. Etude pratique." *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés* 2(J2610): J2610. 2611-J2610. 2620.
  - ❖ Close, G. L. and McArdle, F. (2007). "Antioxidants and free radicals." *Nutrition and Sport*: 153.
  - ❖ Cowan, M. M. (1999). "Plant products as antimicrobial agents." *Clinical microbiology reviews* 12(4): 564-582.
  - ❖ Crespy, A. (2002). "Tanins de pépins de raisin: possibilités de stabilisation de la couleur, de protection contre l'oxydation et d'amélioration de la tenue en bouche sur vins rouges et rosés." *Rev. Franç. Oenol* 195: 23-29.

### « D »

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

- ❖ Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K., & Maïga, A. (2004). Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10), 1073-1080.
- ❖ Dibert, K., Cros, E., & Andrieu, J. (1989). Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: Kinetic data. *Journal of food engineering*, 10(3), 199-214.
- ❖ Drużyńska, B., Stępniewska, A., & Wołosiak, R. (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 6(1), 27-36.
- ❖ Dumas, C. and Charriere-Ladreix, Y. (1979). "Étude cytochimique des polyphénols: généralités concernant les lignines et les sécrétions de tannins et d'aglycones flavoniques." Bulletin de la Société Botanique de France. *Lettres Botaniques* 126(2): 123-142.

### « E »

- ❖ EL Aloui M., Laamouri A., Albouchi A. et Hasnaoui B., 2010 -Variabilité morphologique de quatre écotypes de *Ziziphus zizyphus* (L.) H. Karst en Tunisie (poster). 1er colloque International sur les Ressources Sylvopastorales et Développement Durable en Méditerranée, Tabarka.
- ❖ El Kalamouni, C. (2010). "Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées."
- ❖ El Rhout N., 2002 - Les jujubiers au Maroc: état actuel, germination des graines, valeur pastoral du feuillage et relations hydriques cas de *Ziziphus vulgaris*, Mémoire de 3<sup>ieme</sup> cycles, Ecole National Forestier d'Ingénieurs 178p.
- ❖ Erdman, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., ... & Messina, M. (2007). Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America flavonoids workshop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of nutrition*, 137(3), 718S-737S.
- ❖ Eskilsson, C. S., Björklund, E., Mathiasson, L., Karlsson, L., & Torstensson, A. (1999). Microwave-assisted extraction of felodipine tablets. *Journal of Chromatography A*, 840(1), 59-70.

“F”

- ❖ Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, p.108-115.

« G »

- ❖ Galvan D'Alessandro, L. (2013). Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits, Lille 1.
- ❖ Gao, Q. H., Wu, C. S., & Wang, M. (2013). The jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit: a review of current knowledge of fruit composition and health benefits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(14), 3351-3363.
- ❖ Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., & Nindo, C. (2013). Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(5), 1316-1323.
- ❖ Goyal, R., Sharma, P. L., & Singh, M. (2011). Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory effect of *Ziziphus jujuba* in rat. *Journal of natural medicines*, 65(3-4), 514-518.
- ❖ Gresele, P., Cerletti, C., Guglielmini, G., Pignatelli, P., de Gaetano, G., & Violi, F. (2011). Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22(3), 201-211.
- ❖ Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., & Elias, R. (2006). The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-( $\beta$ -d-glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research*, 20(2), 130-134.

“H”

- ❖ Halliwell, B. (2006). "Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life." *Plant physiology* 141(2): 312-322.

- ❖ Hayakawa, F., Ishizu, Y., Hoshino, N., Yamaji, A., Ando, T., & Kimura, T. (2004). Prooxidative activities of tea catechins in the presence of Cu<sup>2+</sup>. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68(9), 1825-1830.
- ❖ Hayakawa, F., Kimura, T., Maeda, T., Fujita, M., Sohmiya, H., Fujii, M., & Ando, T. (1997). DNA cleavage reaction and linoleic acid peroxidation induced by tea catechins in the presence of cupric ion. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1336(2), 123-131.
- ❖ Hayat, K., Zhang, X., Chen, H., Xia, S., Jia, C., & Zhong, F. (2010). Liberation and separation of phenolic compounds from citrus mandarin peels by microwave heating and its effect on antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*, 73(3), 371-376.
- ❖ He, L., Xu, H., Liu, X., He, W., Yuan, F., Hou, Z., & Gao, Y. (2011). Identification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) seed residues and investigation into their antioxidant capacities by HPLC–ABTS<sup>+</sup> assay. *Food Research International*, 44(5), 1161-1167.
- ❖ Herberg, S., Preziosi, P., Briançon, S., Galan, P., Triol, I., Malvy, D., ... & Favier, A. (1998). A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU. VI. MAX study—design, methods, and participant characteristics. *Controlled clinical trials*, 19(4), 336-351.

### “K”

- ❖ Kaeidi, A., Taati, M., Hajializadeh, Z., Jahandari, F., & Rashidipour, M. (2015). Aqueous extract of *Zizyphus jujuba* fruit attenuates glucose induced neurotoxicity in an in vitro model of diabetic neuropathy. *Iranian journal of basic medical sciences*, 18(3), 301.
- ❖ Kaufmann, B. and P. Christen (2002). "Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction." *Phytochemical analysis* 13(2): 105-113.

- ❖ Kim, J. E., Kim, M. A., Kim, J. S., Park, D. C., & Lee, S. P. (2013). Enhancing the organoleptic and functional properties of jujube by a quick aging process. *Preventive nutrition and food science*, 18(1), 50.
- ❖ Kirkbride, J. H., and Wiersema, J. H. (2006). (1753) Proposal to conserve the name *Ziziphus jujuba* against *Z. zizyphus* (Rhamnaceae). *Taxon*, 55(4), 1049-1050.

« 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, Tunisia.
- ❖ Landis, G. N., and Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of ageing and development*, 126(3), 365-379.
- ❖ Lee, S. M., Park, J. G., Lee, Y. H., Lee, C. G., Min, B. S., Kim, J. H., & Lee, H. K. (2004). Anti-complementary activity of triterpenoides from fruits of *Zizyphus jujuba*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(11), 1883-1886.
- ❖ Leybros, J., and Fremeaux, P. (1990). Extraction solide-liquide. I. Aspects théoriques. *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés*, 2, J2780-1.
- ❖ Liu, J. L., Zheng, S. L., Fan, Q. J., Yuan, J. C., Yang, S. M., & Kong, F. L. (2015). Optimisation of high-pressure ultrasonic-assisted extraction and antioxidant capacity of polysaccharides from the rhizome of *Ligusticum chuanxiong*. *International journal of biological macromolecules*, 76, 80-85.
- ❖ Liu, M. J., and Zhao, Z. H. (2008, September). Germplasm resources and production of jujube in China. In *I International Jujube Symposium 840* (pp. 25-32).
- ❖ Luo, J., Fang, Z., and Smith, R. L. (2014). Ultrasound-enhanced conversion of biomass to biofuels. *Progress in Energy and Combustion Science*, 41, 56-93.

“M”

- ❖ Macheix, J. J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR Presses polytechniques.
- ❖ Mahajan, R. T., and Chopda, M. Z. (2009). Phyto-Pharmacology of *Ziziphus jujuba* Mill-A plant review. *Pharmacognosy Reviews*, 3(6), 320.
- ❖ Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. (2007). Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1), 7-18.
- ❖ Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002, December). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson.
- ❖ Martinez-Cayuela, M. (1995). "Oxygen free radicals and human disease." *Biochimie* 77(3): 147-161.
- ❖ Mason, T. J., Paniwnyk, L., and Chemat, F. (2003). Ultrasound as a preservation technology. *Food preservation techniques*, 303-337.
- ❖ Matte, J. J., Girard, C., & Seve, B. (1998). La vitamine B~ 6 (pyridoxine) et la vitamine B~ 2 (riboflavine): doit-on reviser les recommandations pour le porcelet en sevrage hatif?. *Journées de la recherche Porcine en France*, 30, 253-258.
- ❖ Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications, Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg). Spécialité Pharmacologie, pp: 13.
- ❖ Mircea, O.Isabel,E.(2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis , Faculty of Food Engineering, Stefan cel Mare University of Suceava, Suceava, Romania Institute of Food Engineering for Development (IUIAD), Food Technology Department (DTA), Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain.
- ❖ Mohammedi, Z., and Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst.
- ❖ Muñoz-Márquez, D. B., Martínez-Ávila, G. C., Wong-Paz, J. E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2013). Ultrasound-assisted extraction of

phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(5), 1149-1154.

### “N”

- ❖ Navarro, R. E., Santacruz, H., & Inoue, M. (2005). Complexation of epigallocatechin gallate (a green tea extract, EGCG) with Mn 2+: nuclear spin relaxation by the paramagnetic ion. *Journal of inorganic biochemistry*, 99(2), 584-588.
- ❖ Nkhili, E. Z. (2009). *Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant* (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en sciences des aliments. Université D'Avignon Co-tutelle Université Cadi Ayyad).

### « O »

- ❖ Orphanides, A., Goulas, V., & Gekas, V. (2014). Introducing the concept of sonochemical potential: A phenomenological model for ultrasound assisted extraction. *Journal of Food Engineering*, 120, 191-196.

### “P”

- ❖ Paniwnyk, L., Cai, H., Albu, S., Mason, T. J., & Cole, R. (2009). The enhancement and scale up of the extraction of anti-oxidants from *Rosmarinus officinalis* using ultrasound. *Ultrasonics sonochemistry*, 16(2), 287-292.
- ❖ Papazian, L., & Roch, A. (2008). *Le syndrome de détresse respiratoire aiguë*. Springer Science & Business Media.
- ❖ Paroda, R. S., & Mal, B. (1989). New plant sources for food and industry in India. *New Crops for Food and Industry (GE Wickens, N. Haq and P. Day, eds.)*. Chapman and Hall, London, 135-149.
- ❖ Patist, A., and Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative food science & emerging technologies*, 9(2), 147-154.

- ❖ Penchev, P. I. (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.
- ❖ Peronny, S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*), Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
- ❖ Perret, C. (2001). Analyse de tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea* Pers.: Fr, Université de Neuchâtel.
- ❖ Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J., & 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(6), 2111-2117.
- ❖ Poncelet, C., and Sifer, C. (2011). Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Springer Science & Business Media.

### “R”

- ❖ Rodrigo, R., Miranda, A., & Vergara, L. (2011). Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta*, 412(5), 410-424.
- ❖ Roede, J. R., & Jones, D. P. (2010). Reactive species and mitochondrial dysfunction: Mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environmental and molecular mutagenesis*, 51(5), 380-390.
- ❖ Romanik, G., Gilgenast, E., Przyjazny, A., & Kamiński, M. (2007). Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 70(2), 253-261.
- ❖ Royer, M., Houde, R., stevanovic, T. (2010). Potentiel de développement lié aux extractibles : état des connaissances et revue des. *Québec Wood Export Bureau*.
- ❖ Ryan, P., & Hynes, M. J. (2008). The kinetics and mechanisms of the reactions of iron (III) with quercetin and morin. *Journal of inorganic biochemistry*, 102(1), 127-136.

### “S”



- ❖ San, B., & 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(7), 706-710.
- ❖ Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (2006). *Polyphenols in food products*. Editions Tec & Doc.
- ❖ Savova, M., Kolusheva, T., Stourza, A., & Seikova, I. (2007). The use of group contribution method for predicting the solubility of seed polyphenols of *Vitis vinifera* L. within a wide polarity range in solvent mixtures. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 42(3), 295-300.
- ❖ Singh, J. (2008). Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 67, 32-35.

### “T”

- ❖ Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O. E. K., & Moulti-Mati, F. (2010). OPTIMISATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION DES POLYPHENOLS DE DATTES LYOPHILISEES (*Phoenix dactylifera* L) VARIETE GHARS. *Annales des Sciences et Technologie*, 2(2), 107-114.
- ❖ Touati, S. (2010). Obésité, risque athérogène et effet thérapeutique direct de l'exercice physique: étude sur la contribution des voies signalétiques Akt/eNOS et NADPH oxydase pour expliquer les mécanismes vasculo-protecteurs de l'exercice physique chez le rat rendu obèse par une alimentation enrichie en graisse (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- ❖ Trabelsi, N., Falleh, H., Jallali, I., Daly, A. B., Hajlaoui, H., Smaoui, A., ... & Ksouri, R. (2012). Variation of phenolic composition and biological activities in *Limoniastrum monopetalum* L. organs. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(1), 87-96.

### “V”

- ❖ Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- ❖ Vines, R. A. (1960). "Trees, shrubs and woody vines of the southwest."
- ❖ Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., & Pérez-Álvarez, J. A. (2011). Antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasses obtained as co-product in the juice extraction. *Food Research International*, 44(5), 1217-1223.
- ❖ Vorbach, C., Harrison, R., & Capecchi, M. R. (2003). Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends in immunology*, 24(9), 512-517.

### “W”

- ❖ Wang, B., Huang, Q., Venkitasamy, C., Chai, H., Gao, H., Cheng, N., ... & Pan, Z. (2016). Changes in phenolic compounds and their antioxidant capacities in jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) during three edible maturity stages. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 56-62.
- ❖ Wang, H., Yang, H., Shivalila, C. S., Dawlaty, M. M., Cheng, A. W., Zhang, F., & Jaenisch, R. (2013). One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell*, 153(4), 910-918.
- ❖ Wang, L., and Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.
- ❖ Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.

- ❖ Xu, Y., and Pan, S. (2013). Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise* Macf.). *Ultrasonics sonochemistry*, 20(4), 1026-1032.

**“Z”**

- ❖ Zhang, Z. S., Li, D., Wang, L. J., Ozkan, N., Chen, X. D., Mao, Z. H., & Yang, H. Z. (2007). Optimization of ethanol–water extraction of lignans from flaxseed. *Separation and Purification Technology*, 57(1), 17-24.

## ANNEXE 1

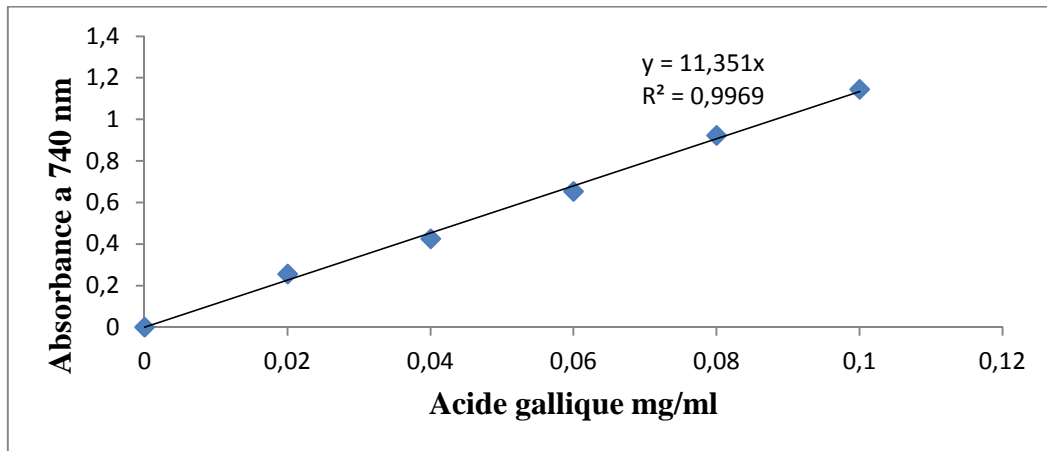


Figure A : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux.

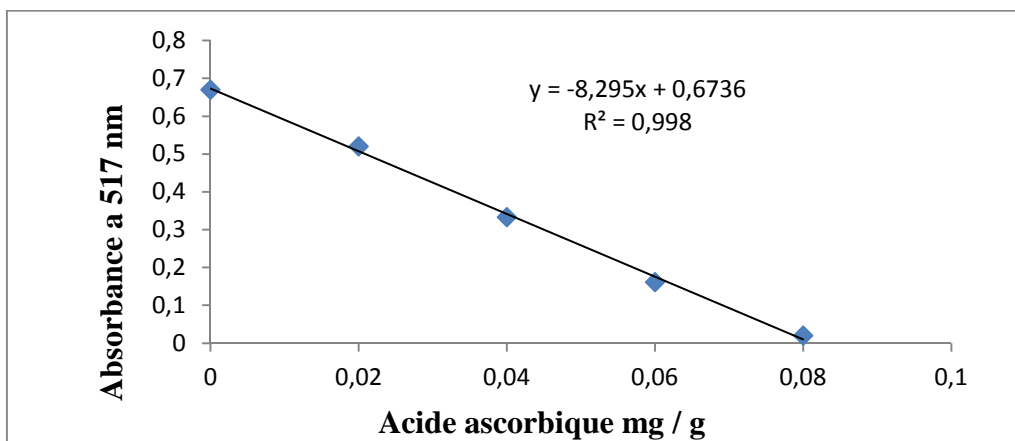


Figure B : Courbe d'étalonnage de DPPH.

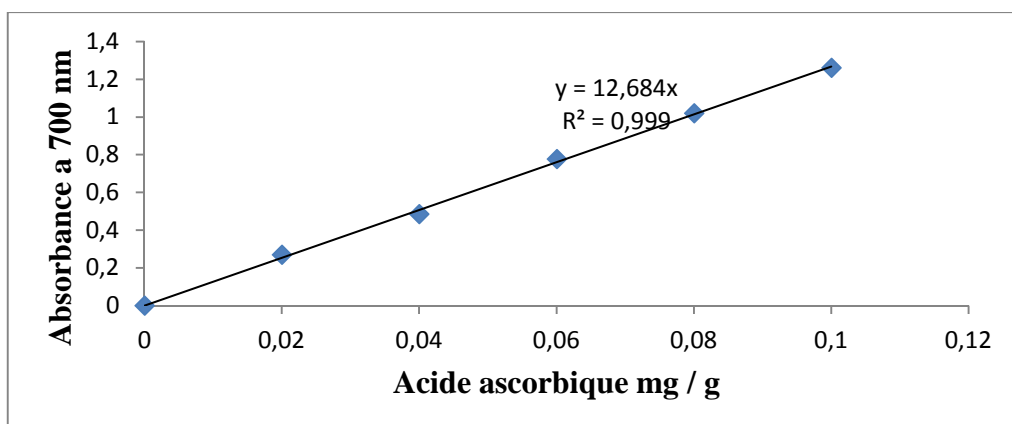


Figure C : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

## RESUME

Dans ce travail la technique d'ultrasonication a été utilisée pour optimisée les conditions d'extraction des polyphénols totaux de trois parties de *Ziziphus jujuba* (feuille, fruit et graine). On se basant sur cinq paramètres : le type de solvant (Méthanol, Ethanol, Acétone et Eau) à ces différents concentrations, la puissance ultrasonique ainsi que le rapport solide/liquide (Ratio) et le temps d'extraction. La richesse de ces trois parties en polyphénols totaux est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, et leur activité antioxydante par la mesure de l'activité anti-radicalaire (DPPH) et le pouvoir réducteur. Les conditions optimales d'extraction de polyphénols totaux qui sont accompagné d'une activité antioxydante élevée sont : pour les feuilles : le méthanol 75%, la puissance ultrasonique (50%), le ratio (1/200), et 15 min comme temps d'extraction. Pour les fruits le choix été : le solvant Acétone (60%), puissance ultrasonique (75%), le ratio (1/100), et pendant un temps d'extraction de 10 min. Pour les graines les conditions optimales obtenus : le solvant Acétone (50%), la puissance ultrasonique (50%) avec un ratio de (1/50) pendant une durée d'extraction de 5min.

**Mots clés :** *ziziphus jujuba*, optimisation, activité antioxydante, composés phénoliques, ultrasons.

## ABSTRACT

In this work, the ultrasonic technique was used to optimized the extraction conditions of total polyphenols in three parts *Ziziphus jujuba* (leaf, fruit and seed). It is based on five parameters: the type of solvent (Methanol, Ethanol, Acetone and water) in these concentrations, the ultrasonic power and the solid / liquid ratio and the time of extraction. The richness of these three parts in total polyphenols is determined by the Folin-Ciocalteu and their antioxidant activity by measuring the anti-radical activity (DPPH) and reducing power. The optimum extraction conditions of total polyphenols, which are accompanied by high antioxidant activity are: for sheets: 75% methanol, ultrasonic power (50%), the ratio (1/200), and 15 min as time extraction. For fruit choice was: the solvent acetone (60%), ultrasonic power (75%), the ratio (1/100), and during an extraction time of 10 min. For seed optimal conditions obtained: the solvent acetone (50%), the ultrasonic power (50%) with a ratio of (1/50) during an extraction time of 5min.

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

## ملخص

في هذا العمل تم استخدام تقنية الموجات فوق الصوتية لتحسين استخراج إجمالي البوليفينول في ثلاثة أجزاء من نبتة العناب (الأوراق، الفاكهة و البذور) بالاعتماد على خمس خواص أربعة أنواع من المذيبات: (الميثانول، الايثانول، الاسيتون و الماء المقطر)، الموجات فوق الصوتية، نسبة الصلب/السائل و الزمن. يتم تحديد ثراء هذه الاجزاء من إجمالي البوليفينول بطريقة فلان سيوكالتو و طريقة النشاط المضاد للاكسدة بقياس الاستطاعة الارجاعية و الالكترونات المعدلة. الظروف الجيدة لاستخراج المركبات الفينولية:- من أوراق العناب الميثانول ( 75٪) الموجة فوق الصوتية (50٪)، نسبة صلب/سائل 1/200 و الوقت 15 دقيقة. - من فاكهة العناب الاسيتون ( 60٪) الموجة فوق الصوتية ( 75٪) ، نسبة صلب/سائل 1/100 و الوقت 10 دقائق و من بذور العناب الاسيتون (50٪)، الموجة فوق الصوتية (50٪)، نسبة صلب/سائل 1/50 و الوقت 5 دقائق.

**كلمات المفاتيح** العناب، المركبات الفينولية، الموجات فوق الصوتية، النشاط المضاد لأكسدة،

