



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم : الميكروبيولوجيا **Département : Microbiologie**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Écologie et Environnement

Spécialité : Écologie Microbienne

Intitulé :

Activité antimicrobienne de la plante médicinale *Zizyphus Lotus*

Soutenu par :

CHAIMA HAMEL

YAMINA SEDRATI

AYA MADI

Le : 23/09/2021

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : BOULTIFET Linda (MCB- UFM Constantine).

Rapporteur : MERGOUD Lilia (MAA- UFM Constantine).

Examinatrice : BOUCHLOUKH Warda (MCB- UFM Constantine).

Année universitaire

2020- 2021

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu qui nous a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce travail.

*On tient avant tout à exprimer notre reconnaissance à Madame **MERGOUD LILIA (MAA- UFM Constantine)** pour avoir accepté de nous encadrer dans cette étude. On la remercie pour son implication, et son soutien tout au long de ce travail.*

*Merci aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail, Présidente du jury **BOULTIFET LINDA (MCB- UFM Constantine)**, et l'examinatrice **BOUCHLOUKH WARDA (MCB- UFM Constantine)**.*

Un merci spécial à toutes nos familles et amis pour leurs encouragements et leur soutien continus.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidés à rédiger ce mémoire, de près ou de loin.

Dédicaces

En cet évènement très spécial, je dédie ce travail

*À ma mère **Nacira Hannache**, "Allah yarhamha" pour ses efforts, son amour et ses encouragements constants, pour son soutien et tous ses sacrifices, même après son départ.*

*À mon père **Abderahim***

*Mes frères **Asma, Mohamed Zaki, Salah Eddin, Malek Ines et Ikhlassa**, de m'avoir aidé, à réaliser cet accomplissement.*

A ma chère grand-mère "Allah yahfadha", et à ma grande famille.

*A ma chère amie **Loua** pour son soutien, pour me remonter le moral et pour me soutenir depuis que je la connais*

*A tous mes amis, spécialement **Marwa, Racha, Nesrine, Hadjer, Malika et Marudja** pour leur amour, soutien et encouragement.*

Chaima

Dédicaces

*Avec l' aide de Dieu, tout Puissant, j' ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie à :*

*Ma mère **Samira Benhanaye**, le plus beau cadeau que le Bon Dieu m'a
offert, qu' Allah la garde pour nous.*

*Mon père **Azzedine Sedrati**.*

*Ma sœur **Raounek**.*

*Mes frères **Mohamed et Allaa Louai eddine**.*

Ma famille et mes amies.

Tous ceux qui m' ont aidé à réaliser ce travail.

Yamina

Dédicaces

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers qui sont mes parents.

À la femme qui m' a porté toute ma vie et qui m' a enveloppée de gentillesse, à la femme la plus extraordinaire et la plus douce du monde :

*Ma Mère **Farida Diabi**, j' exprime mon profond amour.*

*À mon père **Mohammed**, je lui exprime mon profond respect et j' espère que j' été à la hauteur, ma joie est que tu sois fier de moi.*

*À mes très chères seurs **Soumia** et **Manar** pour leur encouragement permanent, et leur soutien moral.*

*À mon petit frère **Amir** que je lui souhaite du succès et de la bonne vie.*

À tous les cousines, les voisins sans exception.

*À mes collègues **Yamina** et **Chaima**.*

*À mes très chères amies : **Intissar**, **Aya**, **Chiraz**, **Roumeissa**.*

Aya

Sommaire

Listes des abréviations

Listes des figures

Listes des tableaux

Introduction générale.....1

Chapitre 1: Généralités sur *Zizyphus lotus*

1. Description botanique.....4

2. Place dans la systématique.....7

3. Nomenclatures de *Zizyphus lotus*.....7

4. Caractéristiques écologiques de la plante.....8

5. Aire et répartition géographique.....8

6. Cycle de développement de *Zizyphus lotus*.....10

7. Conditions de germination des graines de *Z.lotus*.....11

8. Composition biochimique de *Zizyphus lotus*.....12

9. Usage traditionnel de plante.....13

Chapitre 2 : Les substances bioactifs de *Zizyphus lotus*

1. Composés phénoliques de jujubier (*Zizyphus lotus*).....16

2. Localisation des composés phénolique dans *Zizyphus lotus*.....19

3. Activités pharmacologiques des composés bioactifs de *Zizyphus lotus*.....22

4. Extraction des composés phénoliques.....24

5. Mise en évidence de l' activité antimicrobienne.....30

Chapitre 3 : Travaux réalisé sur l'activité antimicrobienne de *Z.lotus*

1. Etude de l' activité antimicrobienne des extraits des fruits de <i>Zizyphus lotus</i>	36
2. Etude de l' activité antimicrobienne des extraits des feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	43
3. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits des écorce des raciness de <i>Zizyphus lotus</i>	49
Conclusion générale	56
Références bibliographiques	59

Liste des figures

Figure 1 : Plante de <i>Zizyphus lotus</i>	4
Figure 2 : Fleur de <i>Zizyphus lotus</i>	5
Figure 3 : Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	5
Figure 4 : Fruits de <i>Zizyphus lotus</i>	6
Figure 5 : Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde.....	9
Figure 6 : Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> en Afrique du Nord.....	9
Figure 7 : Squellète de base des flavonoides.....	17
Figure 8 : Structure des tanins condensé.....	18
Figure 9 : Structure des tanins hydrolysable.....	19
Figure 10 : Schéma représentant le montage soxhlet.....	27
Figure 11 : Image photographique de l' appareile de Soxhlet.....	28
Figure 12 : Schéma de principe de l' extraction par CO ₂ -SC associé au diagramme.....	29
Figure 13 : Zones d' inhibitions obtenues par différents extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	42
Figure 14 : Zones d'inhibition (mm) de l' extrait méthanolique sur les bactéries testées.....	51
Figure 15 : Zones d'inhibition (mm) de l' extrait aqueux sur les bactéries testées.....	53

Listes des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de <i>Zizyphus lotus</i>	7
Tableau 2 : Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans le fruit de <i>Zizyphus lotus</i>	19
Tableau 3 : Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans la feuille de <i>Zizyphus lotus</i>	20
Tableau 4 : Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans l' écorce de racine de <i>Zizyphus lotus</i>	21
Tableau 5 : Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans la pulpe de <i>Zizyphus lotus</i>	22
Tableau 6 : Solvants et composés phytochimiques.....	25
Tableau 7 : Diamètres des zones d' inhibition en fonction de la nature de l' extrait.....	37
Tableau 8 : Activité antifongique des extraits de fruit de <i>Z.Lotus</i>	38
Tableau 9 : Diamètres des zones d' inhibition de la croissance microbienne obtenus par différents extraits du <i>Z.lotus</i>	40
Tableau 10 : Résultats de Inhibition de la croissance mycélienne selon la nature et les concentrations de l'extraits de feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	44
Tableau 11 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> à 10 mg/ml contre les souches bactériennes	48
Tableau 12 : Diamètres des zones d' inhibition de la croissance microbienne (mm) obtenus par différentes concentrations du l' extrait méthanolique.....	50
Tableau 13 : Diamètres des zones d' inhibition de la croissance microbienne (mm) obtenus par différentes concentrations dans l' extrait aqueux.....	52

Liste des abréviations

Cm: Centimètres

CMI: Concentration Minimale inhibitrice

DMSO: Diméthylesulfoxyde

ITC: Taux d'inhibition au croissance

NO: Monoxyde d'azote

P: Pression

PDA: Pomme de terre

T: Température

UAE: Ultrasons assisted extraction

Z.lotus: Zizyphus lotus

Résumé

Zizyphus lotus est connue en Algérie sous plusieurs noms (Sidr ou le nebek), cette plante a depuis toujours été utilisée en médecine traditionnelle, pour traiter plusieurs maladies respiratoires, digestives et même la glycémie.

Au titre de ce mémoire, on a voulu connaître son activité contre les micro-organismes, en étudiant les différentes parties de la plante (Les feuilles, les fruits et les racines), en évaluant des études scientifiques antérieures avec différentes expériences et méthodes.

La majorité des expériences ont montré que divers extraits avaient un effet contre les micro-organismes, avec des intensités différentes, et cela dûe à la quantité qu'ils contiennent sur les tanins et les flavonoïdes, en plus de la méthode d'extraction et de la qualité de l'extrait utilisé.

Mots clés: *Zizyphus lotus*, extraction, activités antimicrobienne, tanins, flavonoïdes.

المخلص

المعروفة في الجزائر بعدة تسميات منها نبات *Zizyphus lotus* السدر أو النبق، هذه النبتة التي تستعمل في الطب التقليدي، وذلك لعلاجها لعدة أمراض تنفسية وهضمية وعلاج سكر الدم لهذا أردنا معرفة نشاطها ضد الميكروبات، بالنسبة لمختلف أجزاء النبتة الورق، الفواكه والجذور، وذلك من خلال تقييم دراسات سابقة علمية بتجارب وطرق مختلفة أظهرت أغلبية التجارب، أن مختلف المستخلصات لها تأثير ضد الميكروبات، بشدات مختلفة وهذا راجع على حسب الكمية التي تحتويها على العفص والفلافونويدات، بالإضافة إلى الطريقة المستخرجة ونوعية المستخلص المستعمل

الإستخراج النشاط الميكروبي فلافونويد التانين *Zizyphus lotus* الكلمات المفتاحية:

Abstract

Ziziphus lotus is known in Algeria under several names (Sidr or nebek), this plant has always been used in traditional medicine, to treat several respiratory diseases, digestive diseases and even blood sugar.

the aim of this thesis was to learn about its activity against Microorganisms, studying the different parts of the plant (Leaves, fruits and roots), evaluating previous scientific studies with different experiments and methods.

The majority of experiments showed that various extracts had an effect against the microorganisms, with different intensities, and this was due to the quantity they contained on the tannins and flavonoids, in addition to the extraction method and the quality of the extract used.

Key words: *Zizyphus lotus*, extraction, antimicrobial activities, tannins, flavons.

Introduction générale

Le règne végétal représente un réservoir en grande partie, inexploré des composés biologiquement actifs, non seulement comme des médicaments, mais aussi comme des modèles uniques qui pourraient servir de point de départ pour les analogues synthétiques et un outil intéressant qui peut être appliqué pour une meilleure compréhension des processus biologiques (**Pushparaj et al., 2004**).

Près de 80 % de la population des pays en voie de développement en particulier l' Afrique dépend de la médecine à base de plantes pour leurs soins, y compris les plaies, les maladies infectieuses et métaboliques. Ces plantes prennent le nom de "plantes médicinales" (**Agyare et al., 2009**).

Selon l' OMS, plus de 20000 plantes sont utilisées dans le monde pour leurs propriétés médicinales, mais seulement 2000 à 3000 plantes ont été étudiées au niveau scientifique.

L' Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (**Dobignard et Chatelain, 2013**).

Cependant, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu' à nos jours, car sur les quelques milliers d' espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (**Baba Aissa, 1999**). Exemple : jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*), qui est largement distribué dans la région méditerranéenne, comme l'Algérie, le Maroc, la Tunisie et la Libye (**Pottier, 1981**).

Le Jujubier sauvage contribue à la formation paysagère et est rencontré naturellement dans ces régions. Il est largement considéré comme spontané ou naturalisé un arbuste, ou comme un arbre fruitier cultivé devenu spontané à certains endroits (**Albertini , 2017**). *Z.lotus* apparaît comme un ingrédient domestique essentiel ayant des bienfaits pour la santé chez la population locale, en raison de ses effets multiples trouvé principalement dans ses préparations de feuilles, de fruits et de racines.

En Algérie, *Z.lotus* est consommé sous forme d'infusions et/ou de décoctions pour traiter diverses affections, y compris les infections des voies urinaires, troubles

digestifs et intestinaux, et peut également agir comme hypoglycémiant, anti-diarrhéique, agent hypotenseur et antiulcéreux.

Plusieurs travaux se sont intéressés à l'étude de la composition biochimique du jujubier sauvage et ses effets thérapeutiques, et autres visent à vérifier le potentiel médicinal de cette plante, en étudiant son activité antimicrobienne.

Notre étude est une synthèse bibliographique portant principalement sur l'évaluation des études antérieures des activités antimicrobiennes de différents extraits du *Zizyphus lotus*. Elle a comme objectif de prouver que toutes parties de la plante sont efficaces contre les micro-organismes à des degrés différents, et de savoir quelle partie ayant plus d'action contre les micro-organismes et quel solvant permettant d'extraire le principe actif et enfin, est-ce que la technique d'extraction a-t-elle un rôle dans l'action de ces extraits sur les micro-organismes ou non ?

Dans ce contexte, nous abordons ici une étude bibliographique en se basant sur des recherches antérieures pour répondre aux questions posées.

Ce document est scindé en trois chapitres :

- Le premier chapitre, est consacré aux généralités sur la plante : La description botanique, la taxonomie, la répartition géographique de la plante et ses caractéristiques écologiques.
- Le deuxième chapitre, présente la composition chimique de la plante, en se focalisant surtout sur les composés bioactifs qui sont responsables des activités pharmacologiques de jujubier.
- Le troisième chapitre, discute quelques travaux et études in vitro de l'activité antimicrobienne de cette plante.

Chapitre 1

Généralités sur la plante

1. Description botanique

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

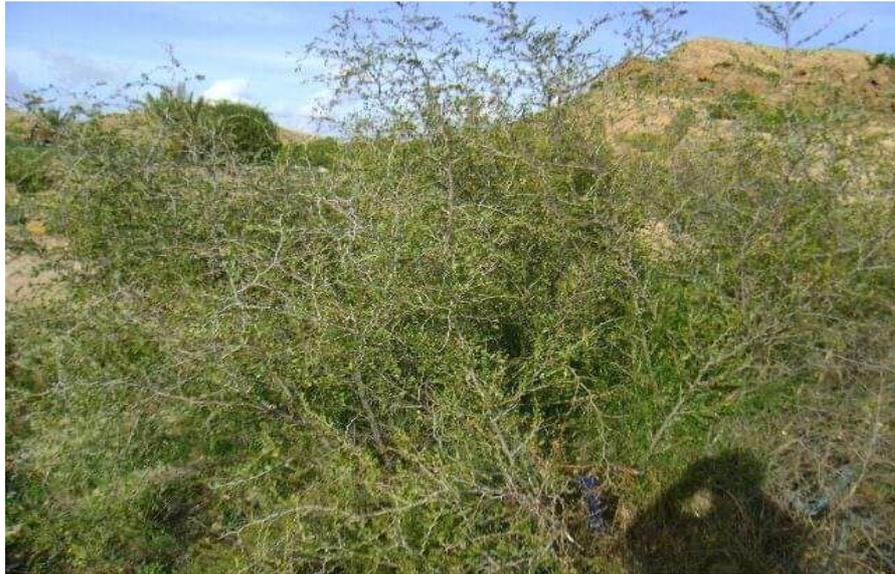


Figure 1 : Plante de *Zizyphus lotus* (Vannette, 2018).

1.1. Tiges

Elles sont très ramifiées recourbés vers le bas, blanches grisâtre, à épines par paires droites ou recourbés (Ghedira, 2013).

1.2. Fleurs

Les fleurs de cette plante sont solitaires ou groupées avec un seul pédicelle court, à calice en forme d' entonnoir, pentamère ; à petite corolle à cinq pétales ; à cinq étamines épi pétales ; à deux styles courts (Ghedira, 2013).

Elles sont très visibles de couleurs jaunes pales (Figure 2) (Baba Aissa, 1999 ; Claudine, 2007).



Figure 2 : Fleur de *Zizyphus lotus* (Ivorra, 2015)

1.3. Feuilles

Feuilles caduques, vertes brillantes d'environ 5 cm de long (Laouedj, 2018). Chaque feuille porte à sa base deux stipules transformées en épines inégales et vulnérables (Figure 3) (Rsaissi et Bouchache, 2002 ; Tardío et al., 2016).



Figure 3 : Feuilles de *Zizyphus lotus* (Vanette, 2018)

1.4. Fruits

Les fruits sont des drupes sphériques dont les noyaux osseux biloculaires, petites et ronds sont recouverts d' une pulpe demi-charnue, très vite sèche, riche en sucre, comestibles et s' appellent « nabak » (Laouedj, 2018).

Cet arbrisseau a une croissance très lente et commence à porter des fruits vers l' âge de 4 ans, ils peuvent continuer à apparaître vers 20 à 25 ans (Bonnet, 2001).

La couleur du péricarpe du fruit de jujubier sauvage change du vert, au jaune, puis au rouge et enfin au marron, cette variation de couleurs représente les différents stades de maturité du fruit (**Figure 4**)(Wang et *al.*, 2016)



Figure 4 : Fruits de *Zizyphus lotus* (Vannette, 2018).

2. Place dans la systématique

Tableau 1 : Classification botanique de *Zizyphus lotus* (Quezel et Santa, 1962).

Règne	Végétale
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Sous classe	Dicotylédone
Ordre	Celastrale
Famille	Rhamnacées
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i>

3. Nomenclatures de *Zizyphus lotus*

3.1. Nom scientifique

Zizyphus lotus Lam.

3.2. Synonymes

Le *Zizyphus lotus*, appelé également jujubier des Lotophages ou Jujubier de Berbérie (Baba Aissa, 1999), a été découvert en 1767. Le nom de *Zizyphus* dérive de l'appellation Berbère «Zizoufou, Zuzaifo», cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique « Zizfum ou Zizafun», alors que les grecs utilisent le mot «Ziziphon» (Tamaguelt et Amzal, 2016).

3.3. Autres synonymes

Les synonymes de cette espèce décrits dans la littérature sont : *Zizyphus lotus* Lam., *Zizyphus lotus* Aitch. = *Zizyphus rotundifolia*, *Zizyphus lotus* Blanco, *Zizyphus lotoidea* St. Lag., *Rhamnus lotus* L (Ghedira, 2013).

3.4. Noms régionaux

Zizyphus lotus est connue sous plusieurs dénominations internationales, notamment (**Ghedira, 1995**) :

Français : Jujubier sauvage, jujubier de Berbérie, lotus des anciens, jujubier des Lotophages.

Anglais : African jujube, Lote fruit, Lotus tree, lotus jujube, wild jujube.

Allemand : Wilde Jujube.

Portugais : Acufeifa-menor.

Espagnol : Azufaifo africano, Azufaifo ibérico, Arto, Arto blanco, Espina de Cristo.

Arabe : Zizouf, زيزوف / sedra, سدرة / sidr, sidr bari, سدر بري.

4. Caractéristiques écologiques de la plante

Zizyphus lotus est très répandu en Afrique du Nord, le Sahara et l'Afrique de l'Ouest, ses formes varient avec le sol et le climat. Il est connu pour sa tolérance à la sécheresse et sa grande résistance à la chaleur avec une température comprise entre 20 et 35°C. Il peut être rencontré dans des zones désertiques avec des précipitations très faibles et dans des zones à différences climatiques marquées (entre 150 et 1000 mm de pluviométrie), il supporte tous les types de sols, mais préfère les sols sableux profonds bien drainés présentant un pH neutre ou légèrement alcalin (**Amara et Benabdeli, 2020**).

5. Aire et répartition géographique

Habitat : " C'est un arbuste des zones rocailleuses, on le rencontre dans les falaises, aux pieds des collines et dans les lits d'oueds à fond rocailleux" (**Laouedj, 2018**).

5.1. Dans le monde

"*Zizyphus lotus* est une espèce méditerranéenne, généralement dans les pays arides et semi-arides, elle est largement distribuée en Chine, Iran, Afrique, en Corée du Sud et en Europe dans des pays tels que Chypre, l'Espagne, la Grèce et la Sicile" (**Figure 5**) (**Gorai et al., 2010**).

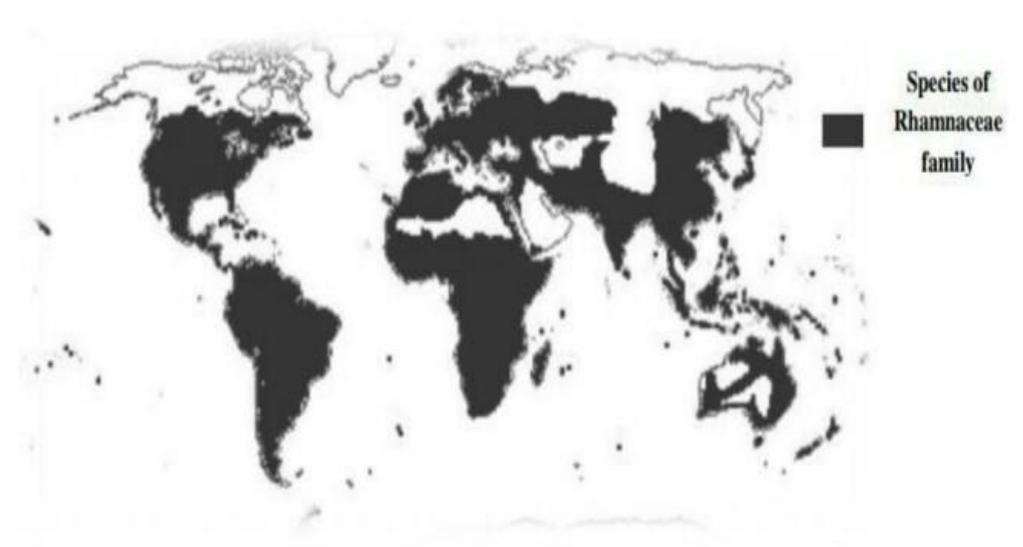


Figure 5 : Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde (Dupont et Guignard, 2015).

5.2. En Afrique

"Commun dans l'Afrique du nord méditerranéenne et au Sahara septentrional"
(Figure 6) (Laouedj, 2018).

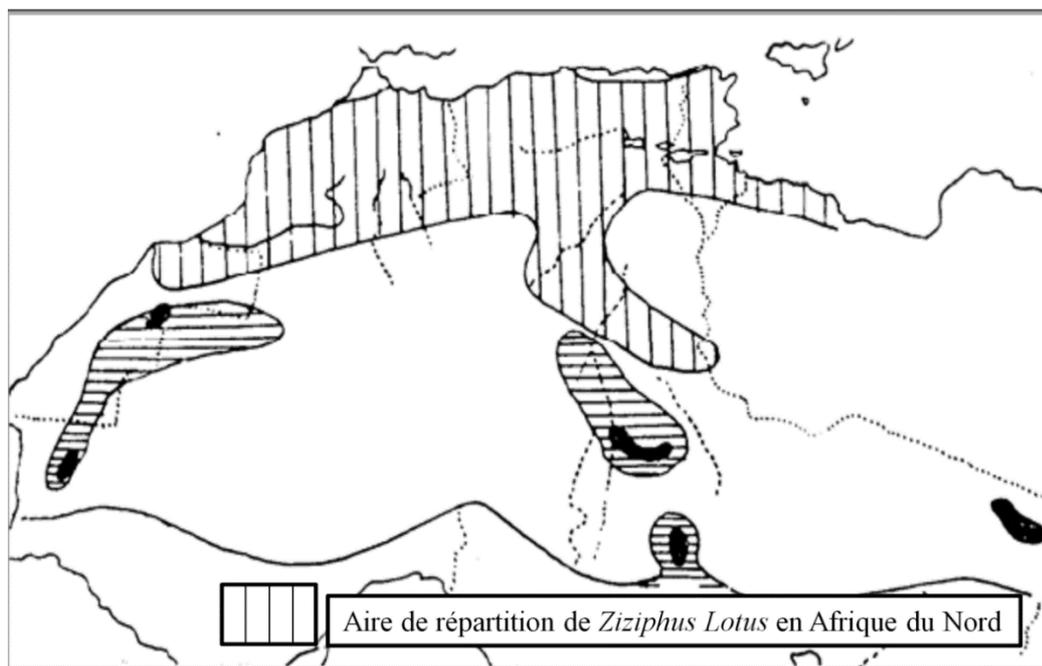


Figure 6 : Aire de répartition du *Zizyphus lotus* en Afrique du Nord (Quézel et Santa, 1962).

5.3. En Algérie

"*Zizyphus lotus* L. est très répandu dans les régions arides d'Algérie du Sud, Ain Ouessara et Maessad (willaya de Djelfa) à climat aride et Taghit wilaya de Bechar au climat Saharien" (Mounni, 2008).

6. Cycle de développement de *Zizyphus lotus*

Les plantes de jujubier sauvage sont dormant depuis le mois d' octobre jusqu' au mois de Mars (Dahlia, 2019).

6.1. Cycle végétatif

La croissance de la partie racinaire est antagoniste avec la partie aérienne, cet antagonisme se caractérise par une diminution ou un arrêt de la croissance d' une partie lorsque l'autre est en croissance (Dahlia, 2019).

6.1.1. Système racinaire

Zizyphus lotus, fait apparaître trois phases importantes (Laamouri et al., 2008).

- Une phase hivernale : elle s' étale jusqu' à mi-Mars, durant cette période la croissance est faible à cause de la diminution de la circulation de la sève brute.
- Une phase printanière : elle s' étale jusqu' à fin Juin et est caractérisée par une forte croissance racinaire.
- Une phase estivale : entre Juillet et Août, où il y a une baisse de croissance des racines.

6.1.2. Système aérien

➤ Porte

Trois périodes de développement sont distinguées (Laamouri et al., 2008).

- Première période : se caractérise par un développement lent qui commence par la germination jusqu' à la 12^{ème} semaine.
- Deuxième période : se caractérise par un développement rapide, Il est de 15 semaines avec un allongement de pivot variant de 5 cm à 11,5 cm par semaine.

- Troisième période : elle est caractérisée par une croissance lente, comme pour la première période.

➤ Rameaux

- Janvier-Février : la dormance des rameaux est levée par une période suffisamment longue à basse température (hiver).
- Mars-Avril : les dernières dormances éventuelles, dues à la photopériode sont elles aussi levées.
- Avril-Mai : le seuil thermique d'activation biologique est dépassé, c'est le débourrement (le début de la période de végétation).
- Juillet-Août : les seuils photopériodiques sont atteints successivement (**Nanson, 2004**).

6.2. Le cycle génératif

6.2.1. L'induction florale

Généralement de mi-juin à mi-juillet, parfois encore jusqu'au mois d'août.

6.2.2. La Floraison - fructification

La floraison a lieu l'année suivante au printemps, avant le débourrement des feuilles, peut s'étaler sur 1 à 2 semaines (**Nanson, 2004**).

Les plantes matures du jujubier sauvage entrent en floraison à partir du mois de juin et juillet, et la maturité des fruits a lieu entre le mois d'août et septembre (**Regehr et El Brahli, 1995**).

7. Conditions de germination des graines de *Z. lotus*

7.1. Conditions internes

Avant la germination, la graine doit répondre aux nombreuses conditions internes qui sont :

- La maturité : c'est-à-dire que toutes les parties qui la constituent soient complètement différenciées morphologiquement (**Heller et al., 2000**).

- La disponibilité de l' amidon, des protéines, des lipides et des nutriments pour l' embryon de la graine à travers l' activité des enzymes et des voies spécifiques (**Miransari et al., 2009**).
- La longévité des semences, autrement dit, la durée pendant laquelle les semences restent vivantes et gardent leur pouvoir germinatif. Cette dernière condition varie considérablement en fonction des espèces (**Heller et al., 2000**).
- La dormance des graines tout comme la germination, est un processus important qui affecte le développement des plantes, qui sont influencés par divers facteurs, y compris les hormones végétales, les bactéries du sol. Peut également affecter de manière significative la germination, La dormance physiologique de l' embryon et des processus qui peuvent y mettre un terme aient fait l' objet de nombreuses études, et leurs causes profondes sont encore mal connues.

7.2. Conditions externes

- L' eau est nécessaire pour l' hydratation des tissus et pour la croissance des organes, elle pénètre par capillarité dans les enveloppes puis est remise en solution dans les réserves de la graine, pour être utilisée par l' embryon, et provoque le gonflement des cellules et leur division (**Soltner, 2007 ; Meyer et al., 2004**).
- La germination exige obligatoirement de l' oxygène. L'oxygène est contrôlé par les enveloppes qui constituent une barrière, mais en même temps une réserve. Elle s' agit de la vitesse de consommation d' O₂ par l' embryon et sur les réactions d' oxydation des composés phénoliques (**Mazlik, 1982**).
- La température est fondamentale dans la germination, bien que beaucoup de graines peuvent germer dans une gamme de température assez large, dans de nombreux cas, le minimum est de 0 à 5°C, le maximum de 45°C à 48°C et l' optimum de 25 à 30°C (**Raven et al., 2003**).
- La lumière est considérée comme un facteur indirect de la germination. Les besoins en lumière pour cette dernière sont variables selon l' espèce (**Vallée et al., 1999 ; Lafon et al., 1990**).

8. Composition biochimique de *Zizyphus lotus*

8.1. Fruits

Contient des grandes quantités de l'acide glutamique, des vitamines, de stérol, de fibres, d'acide gras, triglycérol, d'acide aminés et glucides.

Aussi, les composés antioxydants « phénols, flavonoïdes » sont connus par leur propriété hypoglycémiques, gastro protectrices, immun délatrice et antioxydants et aussi des composés inflammatoires (Abdoul-Azize et al., 2013 ; Bakhtaoui et al., 2014 ; Benammar et al., 2014 ; Boulanouar et al., 2013).

8.2. Feuilles

Contiennent différents glucides et saponines de dammarane, notamment le jujuboside B, trois glycosides de jujubogénine et la jujubasaponine IV (Maciuk et al., 2004).

8.3. Graines

Les graines de *Zizyphus lotus* sont utilisées généralement pour la fabrication de l'huile de *Z. lotus*, car elles sont enrichies par les acides gras essentiels, les antioxydants liposolubles et de nombreux stérols (Chouaibi et al., 2012). Ce qui donne à l'huile des activités Antioxydantes, antiprolifératives et antidiabétique (Renault et al., 1997 ; Ghedira et al., 1993 ; Borgi et al., 2008).

8.4. Pulpe

La pulpe de *Zizyphus lotus* contient une quantité significative de glucide, de phénols, de flavonoïdes et de tanins, servant dans l'activité inhibitrice des micro-organismes (Abdeddaim et al., 2014 ; Rsaissi et al., 2013).

9. Usage traditionnel de plante

9.1. *Zizyphus lotus* et la nutrition

Les fruits de cette plante sont très consommables par la population d'Afrique du Nord. Ils sont très délicieux et très riches en nutriments : Vitamines E, C, fibre acides gras, acides aminés et les sucres en quantités considérables (Abdoul-Azize, 2016 ; Chouaibi et al., 2012).

Cette plante est très utilisée dans la nutrition, la santé, les cosmétiques sous plusieurs formes : miel, les jus, les pains, l' huile, etc. (**Abdoul-Azize, 2016**).

Les jujubes se consomment de différentes manières, ils sont consommés comme aliment frais, conservés, secs ou utilisés en confiserie et pâtisserie, et leur jus peut être utilisé pour la préparation de boissons rafraîchissantes (**Lahlou et al., 2002**).

En inde, les fruits mûrs sont utilisés pour la préparation des produits secs semblables à ceux de la datte sèche, et sont consommés en hiver comme dessert (**Parrek, 2001**).

Le miel issu du butinage de ses fleurs est un miel de haute qualité nutritive agréable et médicinale (**Ghazanfar, 1994**).

Le fruit de *Zizyphus lotus L.* est aussi utilisé pour la confection du pain appelé Oufers chez les Touaregs.

En Chine, ce fruit est très utilisé pour la fabrication du vin, consommé glacé ou avec du thé (**Ghost et Lysias Derrida, 2007**).

Selon **Soule (2011)**, les feuilles et les fruits sont utilisés dans plusieurs domaines :

- Les feuilles sont très appréciées par bétail.
- Les branches servent à faire des clôtures des parcs à bétail.
- Les feuilles sèches pulvérisées et additionnées d' eau donnent une sorte de bouillie Lekhwadh avec laquelle les femmes se tressent les cheveux, cette bouillie aurait la propriété de noircir et d' allonger la chevelure.

9.2. *Zizyphus lotus* et la santé

En médecin traditionnel le *Zizyphus lotus* est utilisé comme médicament anti-diabète, analgésique, bronchite et anti-diarrhéique par les habitants des régions arides et semi arides du monde.

Récemment, plusieurs études scientifiques ont montré les bienfaits de cette plante pour la santé et le potentiel nutritionnelle des composés bioactifs de ce jujube (**Abdoul-Azize, 2016**).

En effet la poudre de feuilles séchées est mélangée avec le lait ou de l' eau pour le traitement de diabète (**Ghedira et al., 1995**).

Les fruits et les feuilles de la plante sont utilisés également comme émoullients **(Bellakhdar, 1997)**.

Ainsi pour le traitement des maladies intestinales et diarrhées. Le jus des racines de cette plante est efficace pour le traitement des leucomas des yeux **(Boukef, 1986)**.

Chapitre 2

Les substances bioactives

de *Zizyphus lotus*

1. Composés phénoliques de jujubier (*Zizyphus lotus*)

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés. Ils sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d' un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides dans une autre fonction chimique : éther, ester, hétéroside (**Bruneton, 1993**).

Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

1.1 Les polyphénols

1.1.1. Définition

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

Ils sont divisés en plusieurs catégories : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins (**SFA, 2005**).

1.1.2. Classification

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes, qui se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modification de ce squelette et les liaisons possibles de ces molécules de base avec d' autres (glucides, lipides, protéines, etc.) (**Herbert, 1989 ; Beta et al., 2005 ; Macheix et al., 2005**).

1.2. Les flavonoïdes

1.2.1. Définition

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

Ces molécules ont toutes le même squelette de base à quinze atomes de carbones (C6-C3 -C6), constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux) que désignent les

lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (**figure 7**) (**Dacosta, 2003**).

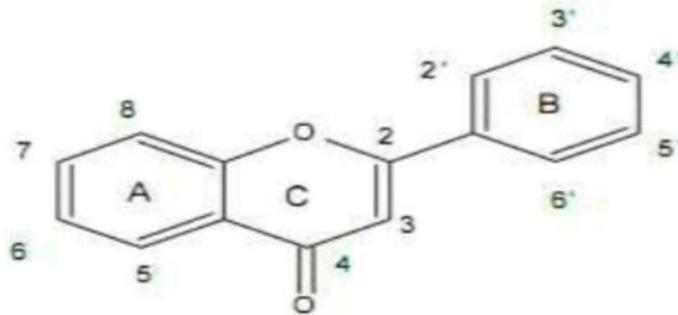


Figure 7 : Squelette de base des flavonoïdes (**Girroti, 2006**).

1.2.2. Classification

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes, qui sont déterminées par l'état d'oxydation de l'unité de liaison (C), et la position du noyau benzénique (B) (**Bruneton, 1993 ; Narayana et al., 2001**).

Tandis que les composés de la même classe sont déterminés par le point d'hydroxylation, ou d'autre substitution du noyau A ou B (OH, OCH₃ et/ou glycosyl) (**Verpoorte et Alfer-mann, 2000 ; Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003**).

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

1.3. Les tanins

1.3.1. Définition

Ce sont des métabolites hydrosolubles de masse molaire entre 500-2000 D, toutes les plantes en contiennent à des degrés différents (**Zimmer et Cordesse, 1996 ; Bruneton, 1999**).

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

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

1.3.2. Classification

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

1.3.2.1. Les tanins condensés (Tannins vrais ou tannoïdes)

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

Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone C4-C8 ou C4-C6 dans le type B des proanthocyanidines, ou par une liaison interflavanique double (C4-C8 ou C4-C6) et (C2-O-C7) dans le type A (figure 8) (Bruneton, 1999 ; Xie et Dixon, 2005 ; Vivas et al., 2006).

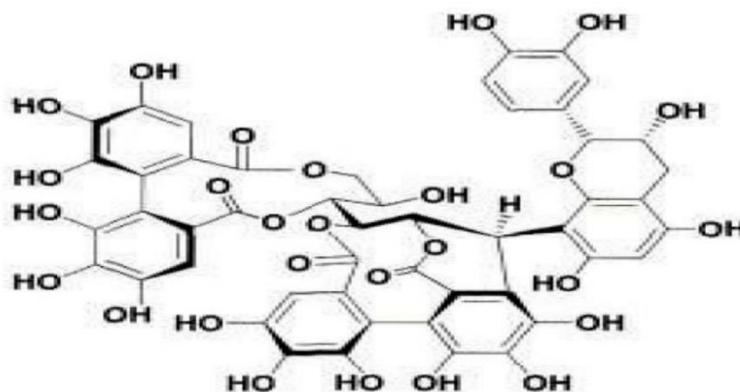


Figure 8 : Structure des tanins condensés (Pirrony, 2005).

1.3.2.2. Les tanins hydrolysables

Appelés aussi acide tannique, sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation d'acide ellagique.

Ils ont un poids moléculaire plus faible (de 500 à 3000) et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés (**Figure 9**) (**Jarrige et al., 1995**).

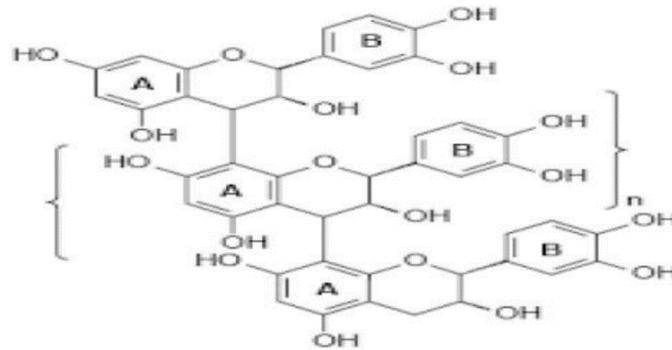


Figure 9 : Structure des tanins hydrolysable (**Pirrony, 2005**).

2. Localisation des composés phénoliques dans *Zizyphus lotus*

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

2.1. Fruit

Les phénols totaux sont les composés principaux de 297 à 4078, 2 mg/100g de matière sèche, en outre, les flavonoïdes et les tanins sont présents en quantité modérés, respectivement 122 et 33 mg/100g (**Tableau 2**) (**Ghazghazi et al., 2014 ; Hammi et al., 2015**).

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

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

2.2. Feuille

La teneur totale en phénols est de : 664 mg/100g (**Ghazghazi et al., 2014**), avec des flavonoïdes allant de 130 à 199 mg/100g (**Ghazghazi et al., 2014 ; Borgi et al., 2008**).

Une teneur élevée en saponines (340 mg/100g) (**Borgi et al., 2008**) et une grande quantité de glucides (8720 mg/100g) (**Maciuk et al., 2004**), et autres molécules trouvées en petite quantité inférieure à 10 mg/100g (**Tableau 3**).

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

Organe végétale	Composés phénoliques	Contenu en mg/100g	Référence
Feuille	Totale phénolique	664	(Ghazghazi <i>et al.</i> , 2014 ; Borgi <i>et al.</i> , 2008 ; Maciuk <i>et al.</i> , 2004 ; Maciuk <i>et al.</i> , 2003).
	Flavonoïdes	130-199	
	Tanins	39	
	Saponines	340	
	Jujuba saponine IV	2	
	Flavonol glycoside	3	
	Polyphénols	1468	

2.3. Ecorce de racine

La teneur en polyphénols est de (2009 mg/100g) (Ghalem *et al.*, 2014), avec une teneur élevée en saponines (219 mg/100g). Une teneur assez élevée en flavonoïdes (120 mg/100g) (Borgi *et al.*, 2008) et une grande quantité de paraoanthocyanidines (156 mg/100g) (Ghalem *et al.*, 2014) par rapport à d' autres molécules tel que : les cyclopeptide alkaloides d' une quantité allant de 1.4 à 23.95 mg/100g (Tableau4) (Ghedira *et al.*, 1993 ; Le Crou'eur *et al.*, 2002).

Tableau 4 : Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans l' écorce de racine de *Zizyphus lotus*.

Organe végétale	Composés phénoliques	Contenu en mg/100g	Référence
L'écorce de racine	Les flavonoïdes totaux	120	(Elaloui et al., 2014 ; Ghedira et al., 1993 ; Borgi et al., 2008 ; Benammar et al., 2010).
	Saponines	219	
	Polyphénols	2009	

2.4. Pulpe

Contient de grandes quantité de sucres solubles (10.55 g/100g), de fibre (4.84 g/100g) de matière minérales (3.2g/100g) et de protéines (1.18 g/100g) (**Abeddaim et al., 2014**), aussi que de tanins (922 mg/100g) et de quantité modéré de polyphénols (325 mg/100g)(**Tableau 5**)(**Rsaissi et al., 2013**).

Tableau 5 : Distribution et contenu des composés phénoliques et autres composés photochimiques dans la pulpe de *Zizyphus lotus*.

Organe végétale	Composés phénoliques	Contenu en mg/100g	Référence
Pulpe	Les phénols totaux	325	(Abeddaim et al., 2014 ; Rsaissi et al., 2013).
	Flavonoïdes	173	
	Tanins	922	

3. Activités pharmacologiques des composés bioactifs de *Zizyphus lotus*

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

Il a été démontré qu' ils possédaient des propriétés cardio protectrices (**Benkhalti et al., 2002**), anticancéreuses, antivirales, anti allergéniques (**Tapiero et al., 2002 ; Borgi et Chouchane, 2009**) et est largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, anti radicalaires et antimicrobiens (**Bahorun, 1997 ; Cetkovic et al., 2008**).

3.1. Activités anti-inflammatoires et analgésiques

Les flavonoïdes et les saponines de l' écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une activité anti-inflammatoire significative (**Borgi et Chouchane, 2006**). *Zizyphus lotus* inhibe la production de monoxyde d' azote (NO), cette activité apparaît potentiellement avec l' extrait méthanoïque de l' écorce des racines qui est la source possible de l' agent anti-inflammatoire dans la réaction de l' hypersensibilité retardée induite par l' oxazolone (**Borgi et al., 2008**).

Les feuilles de *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs : les flavonoïdes et les saponines (**Borgi et al., 2008 ; Borgi et al., 2007**).

Toutes ces activités confirment l' usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses (**Borgi et al., 2007**).

3.2. Activités antifongiques et anti-mollusques

Les différents extraits (éthéré, chloroformée, extrait d' acétate d' éthyle et méthanoïque) de *Zizyphus lotus* ont montré une activités sur les champignons et les levures (**Lahlou et al., 2002**).

3.3. Activités anti-ulcérogéniques

Les feuilles et l' écorce des racines de *Zizyphus lotus* possèdent une importante activité anti-ulcérogénique attribuée à la présence de tanins et de flavonoïdes connus pour leurs effets gastro protecteurs (**Borgi et al., 2007**).

3.4. Activités antimicrobiennes

Des études faites par **Ghédira (1995)** ont montré qu' un alcaloïde de cette espèce *Z. lotus* présente une activité antibactérienne significative, mais beaucoup de groupes de recherche ont étudié l' activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que *Zizyphus lotus*, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al., 2009**).

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

3.5. Activités anti oxydantes

Les propriétés anti oxydantes des polyphénols participent à la prévention de diverses pathologies impliquant le stress oxydant, le vieillissement cellulaire, et les maladies cardiovasculaires ou dégénératives (**Wang et Mazza, 2002 ; Macheix et al., 2005 ; Sarni et al., 2006**).

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

3.6. Activités antidiabétiques et hypoglycémiques

Des études récentes menées sur des rats hyper glycémiques induite par la streptozotocine montrent que les extraits de racines et des feuilles de *Z. lotus* présentaient une activité hypoglycémique très efficaces (**Benammar et al., 2014**).

Les saponines de *Z. lotus* ont présentés des effets anti sucrés (**Renault et al., 1997**).

4. Extraction des composés phénoliques

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d' un organisme végétal selon diverses techniques (**Herodez et al., 2003**).

L' extraction d' une molécule se fera toujours par solvant de même polarité. Le choix d'un solvant ou d' un mélange de solvants est primordial lorsqu' il s' agit d' une extraction des drogues végétales. Il est fondé sur plusieurs paramètres physicochimiques : la polarité, la solubilité des constituants cibles, l' innocuité, la facilité d' élimination et la pureté du solvant (**Tableau 6**) (**Handa et al., 2008 ; Jones et Kinghorn, 2005**).

Les solvants polaires tels que : l' eau, l' acétate d' éthyle, le méthanol, l' éthanol ou l' acétone permettront d' isolement de molécules Polaires : terpenoides phénols, lactones, alcaloïdes, protéines, acides aminés, gommés, mucilage.

Les solvants apolaires comme : l' hexane, le toluène, le chlorure de méthylène, le chloroforme va extraire les carbures, lipides, stérols, les huiles essentielles, cires, résine, et chlorophylle (**Anton et Wichtl, 2003**).

Tableau 6 : Solvants et composés phyto chimiques (Cowan, 1999).

Solvants	Composés phyto chimiques
Eau	Anthocyanes Tanins Saponines
Ethanol	Polyphénols
Méthanol	Anthocyanes Saponines Lactones Flavones Phénols
Chloroforme	Terpénoïdes Flavonoïdes
Ether	Alcaloïdes Terpénoïdes Coumarine
Acétone	Phénols Flavonols

Le choix de la procédure d'extraction est basé sur les caractéristiques physicochimiques des composés à extraire.

Deux procédures d'extraction sont généralement utilisées (**Handa et al., 2008 ; Jones et Kinghorn, 2005**) :

- Extraction par mise en contact avec un solvant : les échantillons végétaux broyés sont mis en contact avec le solvant dans un mélangeur, puis l'extrait est filtré.

Le filtrat peut être séché sous pression réduite, puis dissout dans le solvant.

- Extraction successive avec des solvants de polarité croissante : d' un solvant apolaire à un solvant polaire pour assurer une extraction optimale des composés de polarités différentes.

4.1. Méthodes d' extraction des composés phénoliques

Plusieurs techniques sont utilisées pour extraire les composés phénoliques. Ces techniques sont soit conventionnelles, telles que l' extraction par macération, par infusion et au Soxhlet, ou nouvelles comme l' extraction assistée par micro-ondes, par ultrasons, ou par fluide supercritique.

4.1.1. Méthodes conventionnelles

4.1.1.1. Macération

L' extraction par macération est utilisée depuis longtemps pour extraire les tanins condensés et les polyphénols à partir des écorces d' arbres, ou à partir des fruits. Les solvants utilisés sont l' eau, l' acétone 70% ou le méthanol 80%.

Elle présente l' intérêt d' être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d' autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est très peu sélective (**Makino et al., 2009**).

4.1.1.2. Infusion

L' extraction par infusion consiste à utiliser l' eau chaude pour extraire les polyphénols dans les plantes pour leurs propriétés anti-oxydantes ou anti-inflammatoires (**Diouf et al., 2009**). Cette méthode est simple, n' utilise pas de solvant, limite le développement bactérien mais elle permet d' extraire une quantité importante de sucres et nécessite un temps d' extraction long (3h) (**Makino et al., 2009**).

4.1.1.3. Extraction à chaud en continu (Soxhlet)

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

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 ballon s'enrichit progressivement en composés solubles.

La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extract (Figure 10, 11) (Herodez *et al.*, 2003).

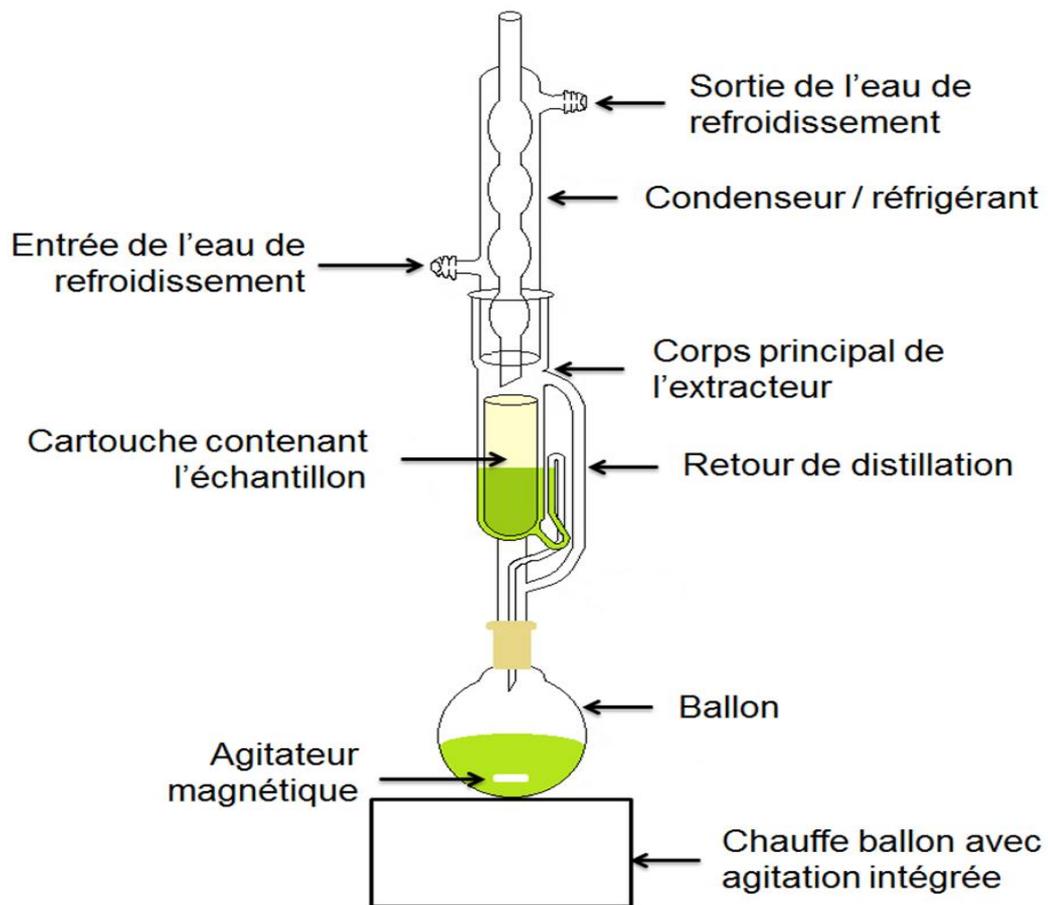


Figure 10 : Schéma représentant le montage soxhlet



Figure 11 : Image photographique de l'appareil de Soxhlet

4.1.1.4. Extraction par hydrolyse acide

Elle consiste en l' extraction et la séparation des flavonoïdes par hydrolyse acide et à chaud de la poudre végétale (la liaison C-O-C des O-glycosyl-flavonoides est très fragile et se rompt à l' hydrolyse acide en libérant les aglycones, par contre la liaison C-C des C-glycosyl-flavonoïdes est très résistante à ce type d' hydrolyse) et permet d' obtenir deux types de composés :

- Une fraction d' aglycones et d' acides phénols par l' extraction préliminaire à l' éther diéthylique.
- Une fraction de C-glycosides et d' anthocyanes récupérée par l' extraction au n-butanol.

4.1.2. Autres méthodes

4.1.2.1. Extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique, nécessite des conditions critiques faciles à atteindre ($T = 31.1^{\circ}\text{C}$, $P = 73.8 \text{ bar}$), le CO₂ sous pression et à température supérieure à 31°C , le gaz carbonique se trouve dans un état « supercritique » ; la matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré, le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend ainsi sa forme gazeuse et est complètement éliminé.

L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant (**Figure 12**) (**Herodze et al., 2003**).

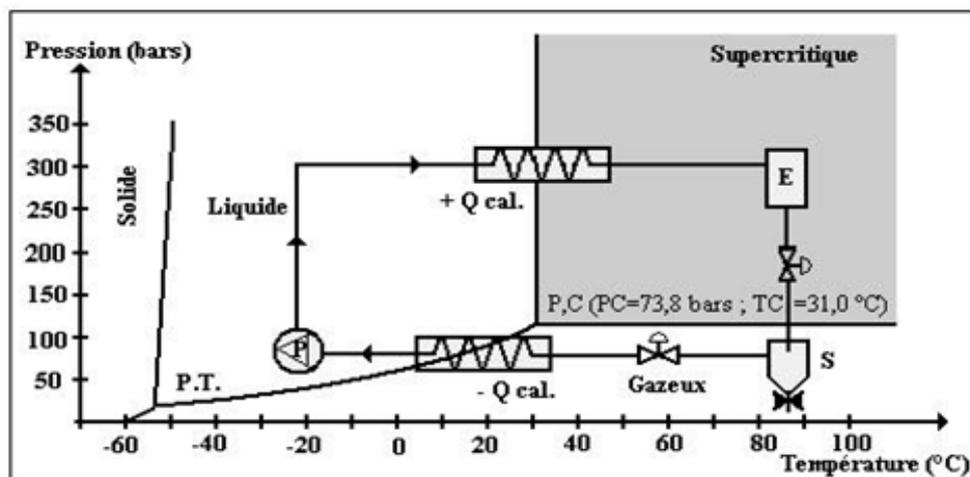


Figure 12 : Schéma de principe de l'extraction par CO₂-SC associé au diagramme (P-T) (Wang et Waller, 2006).

4.1.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (MAE, Microwave Assisted Extraction)

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle.

Les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d' eau propre à la plante traitée.

Ce chauffage, en vaporisant l' eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l' intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile (**Herodez et al., 2003**).

4.1.2.3. Extraction assistée par ultra-sons (Ultrasonic Assisted Extraction (UAE))

Cette technique présente l' intérêt de faire des extractions à température ambiante, 20-25°C et pour des durées très courtes de 3-30 min, ce qui permet de préserver les composés thermolabiles (acide gras, polyphénols), des colorants, des antioxydants, des arômes ou aussi des caroténoïdes (**Routray et Orsat, 2012**).

Son principe consiste à la destruction des parois cellulaires par des fréquences d' ultrasons (Les fréquences utilisées sont généralement supérieures à 20 kHz), ce qui permet une meilleure pénétration du solvant au cœur de la matière, et par conséquent un meilleur rendement d' extraction.

En milieu liquide, les ultrasons provoquent des cycles d' expansion et de compression des cellules formant ainsi des bulles, le développement excessif des bulles microscopiques à proximité des parois cellulaires, entraîne une élévation de température et de pression, ce qui provoque l' explosion des bulles et la destruction des parois cellulaires (**Wang et Weller, 2006**).

5. Mise en évidence de l' activité antimicrobienne

5.1. Méthode en milieu solide

5.1.1. Méthode de diffusion des puits

Décrite par **Cooper et Woodman (1946)** reprise par **Shroder et Messing (1949)**.

Principe

Elle consiste à découper la gélose en formant des trous circulaires (puits) pour verser l' extrait de différentes concentrations.

L' extrait diffuse radialement en donnant une zone d' inhibition circulaire à la surface de la géloseensemencée avec la suspension bactérienne (**Eymard, 2003**).

- **Repiquage des souches bactériennes**

Les souches bactériennes à tester se préparent par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive, puis incubées pendant 24H à 37°C pour obtenir des colonies isolées.

- **Préparation de l' inoculum**

Prélever à l' aide d' une pipette pasteur des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées pour les homogénéiser dans 5 ml d' eau physiologique stérile.

- **Préparation des milieux de cultures**

La gélose de Mueller-Hinton est coulée et répartie dans des boîtes de pétri stériles, ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant leur emploi.

- **Ensemencement**

L' ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries, en tournant la boîte d' environ 60°, il s' effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les boîtes.

- **Préparation des puits**

- Découper des trous circulaires dans la gélose de chaque boîte de pétri pour former des puits.

- Remplir les puits avec 20 microlitres de l' extrait à tester à des concentrations différentes.

Des puits imprégnés de diméthylsulfoxyde (DMSO) vont servir comme témoin négatif.

- Incuber les boîtes pendant 24H à 37°C.

- **Expression des résultats**

- L' activité antibactérienne se manifeste par l' apparition des puits contenant la substance inhibitrice testée (**Boumaza, 2011**).

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d' inhibition autour de chaque puit à l' aide d' une règle (mm).

Le diamètre de la zone d' inhibition montre la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (**Benkiki, 2006**).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

5.1.2. Méthode de diffusion par disque

Principe

La méthode repose sur la compétition de la croissance d' une bactérie et la diffusion d' un agent antibactérien dans un milieu gélosé à partir d' un support papier pré-imprégné d' un agent antibactérien, le diamètre d' inhibition, qui traduit l' activité antibactérienne de l' extrait, est ainsi déterminé (**Vardar-Unlü et al., 2003**).

- **Technique (Arsene et al., 2015 ; Valle et al., 2015)**

- Préparer l' inoculum à partir d' une culture pure de 18H de la souche à étudier.
- Préparer une suspension dans de l' eau physiologique stérile, d' une densité équivalente à 0,5 Mc Farland.
- Avec un écouvillon essoré,ensemencer toute la surface du milieu en stries serrées.
- Laisser sécher les boites pendant 30 min à 37 °C.
- Déposer soigneusement les disques à la surface de la gélose.
- Pré-incuber les boites pendant 2 heures à 4 °C.
- Incuber pendant 24 heures, à 37 °C.

Les bactéries à une zone claire d'inhibition de plus de 12 mm ont été considérés comme sensibles (**Arora et Kaur, 2007**).

5.1.3. Méthode de contact direct

Principe

Cette méthode est utilisée pour tester l' activité antifongique de différents extraits de végétaux ou encore appelée la technique du milieu empoisonné.

Elle consiste à mélanger un volume précis de l' échantillon « l' extrait qu' on veut tester son activité » avec le milieu considéré pour le dénombrement des levures et des moisissures : la gélose glucosée à l' extrait de pomme de terre (PDA).

Deux témoins doivent être préparés : Un contrôle négatif sans extrait et un contrôle positif contenant le fongicide.

- **Insemencement**

Après solidification du milieu, l' ensemencement se fait en déposant des fragments de 6 mm de diamètre, collectés aseptiquement de la périphérie des tapis mycéliens de chaque culture fongique de 7 jours.

- **Incubation**

L' incubation se réalise dans une étuve à une température de 25°C, Chaque essai se répète trois fois.

L' évaluation se fait au deuxième et au cinquième jour d'incubation, en mesurant le diamètre de croissance de chaque dépôt des espèces de champignons testées.

Le taux d'inhibition de la croissance (ICT) est calculé en utilisant la formule d'Abbot (**Motiejunait et al., 2004**),

$$TIC = (DT-D0) / DT \times 100$$

DT : diamètre des fragments fongiques de contrôle négatif (mm)

D0 : diamètre des fragments fongiques en présence de l'extrait ou antibiotique.

L'évaluation de l'activité est basée sur l'inhibition de la croissance selon l'échelle suivante (**Alcamo, 1984**):

- Entre 75 et 100 % : très actif, l'espèce fongique est très sensible.
- Entre 50 et 75 % : actif, l'espèce fongique est susceptible.
- Entre 25 et 50 % : modérément actif, les espèces fongiques sont limitées.
- Entre 0 et 25 % : peu ou pas d'actifs, l'espèce fongique est résistante.

5.2. Méthode en milieu liquide

5.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Principe

La CMI est la concentration minimale en agent antibactérien à utiliser pour inhiber la multiplication du germe.

C' est donc la plus faible concentration capable d' inhiber totalement la croissance bactérienne (Odunayo *et al.*, 2007).

• Technique (Kang *et al.*, 2011)

- Diverses concentrations des extraits sont testées contre les bactéries pathogènes.
- Dans une série de tubes à essai, introduire 0.7 ml de bouillon Mueller Hinton, 50 µL de chacune des suspensions bactériennes et 0.25 ml des concentrations croissantes du stock préalablement préparées.
- Un tube ne contenant que la suspension bactérienne, le milieu de culture et le DMSO est considéré comme un contrôle négatif.
- Incuber pendant 48 heures, à 37 °C.

Chapitre 3

Travaux réalisés sur

l'activité antimicrobienne

de *Z. lotus*

1. Etude de l' activité antimicrobienne des extraits des fruits de *Z.lotus*

Dans un projet de fin d' étude réalisé par **Aymane Bessi en 2017**, les fruits de *Zizyphus lotus* sont récoltés dans la région de Fès (Maroc) durant le mois d' août 2016 pour tester leur activité antimicrobienne contre 4 bactéries : *Enterococcus Faecalis*, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, et la levure *Candida Tropicalis*. Il a préparé 3 types d' extraits : éthanolique, méthanolique et aqueux à partir de 15g de la poudre fine des fruits par la méthode de Soxhlet avec un rapport de 1/10 (P/V) pendant 7h. Le solvant utilisé a été éliminé par évaporation, sous pression réduite, dans un rotavapeur à 40°C. Après évaporation totale du solvant, l' extrait obtenu est stocké à 4°C et à l' abri de la lumière.

La mise en évidence de l' activité antimicrobienne des différents extraits a été faite par la méthode de diffusion par puits sur gélose, le milieu de culture LB-Miller, pour les bactéries et le milieu YPG pour la levure.

D' après les résultats obtenus, l' extrait éthanolique semble être le plus puissant au niveau de l' activité antibactérienne, par rapport à l' extrait méthanolique et aqueux, donc **l'éthanol** était le meilleur solvant pour l' extraction des composés phénoliques, suivi du méthanol et enfin de l' eau, ceci pourrait expliquer l' efficacité de l' extrait éthanolique contre la plupart des souches étudiées.

A l' exception de la levure *Candida tropicalis* (résistante), les souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* ont manifesté une sensibilité vis-à-vis des trois extraits de la pulpe de *Zizyphus lotus*, *Staphylococcus aureus* semble la plus sensible pour les trois extraits. Par contre, *Escherichia coli* parait plus résistante (**Tableau 7**)

Tableau 7 : Diamètres des zones d' inhibition en fonction de la nature de l' extrait (**Bessi, 2017**).

		Diamètre des zones d' inhibition (mm)		
Extraits	Souches	Aqueux	Ethanolique	Méthanolique
		<i>Escherichia coli</i>	10,5	11,5
	<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	15	15
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	9	10
	<i>Enterococcus faecalis</i>	11,5	15	12
	<i>Candida tropicalis</i>	-	-	-

* (-) : pas de diamètre

Les extraits de fruit de *Zizyphus lotus* non seulement présentent un effet inhibiteur sur la croissance de certaines bactéries impliquées dans les maladies et les intoxications chez l'homme, mais aussi sur certains champignons responsables de la toxicose du bétail; cette activité a été évalué *in vitro* par **Rsaissi et ses collaborateurs en 2013** sur 4 espèces des champignons : *Fusarium culmorum*, *Aspegillus ochraceus*, *Penicillium italicum* et *Rhizomucor sp.*

Ils ont récolté les fruits de *Zizyphus lotus* dans la région d'el Brouj à la Région de la Chaouia (Maroc), dénoyauté et broyé après les avoir séchés à 40°C pendant un jour, ensuite les transformés en poudre fine, l'extraction a été réalisée avec 3 solvants de polarité croissante : éther de pétrole suivi de dichlorométhane et terminé par du méthanol. Ils ont utilisé 50 g de poudre fine de la pulpe et 400 ml de chaque solvant, chaque macération était sous agitation mécanique pendant 24h. Les extraits ont été filtrés à l'aide du papier Wattman et concentrés sous vide avec évaporateur rotatif à 40°C.

Enfin, ces extraits étaient conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation. L'évaluation de l'activité antifongique des extraits de fruit a été déterminée par la technique du milieu empoisonné. Ainsi, ils ont ajouté 1g de chaque extrait à 50 ml de culture PDA nutritif moyen, qui est fondu à une température de 50°C, pour obtenir une concentration de 20 mg/ml, un contrôle négatif sans extrait et un contrôle positif contenant le fongicide difénoconazole à raison de 30 µg/ml ont été utilisés.

À partir du 5^{ème} jour d'incubation, ils ont fait l'évaluation pour savoir quelles sont les plus résistantes, en mesurant le diamètre de croissance de chaque dépôt de quatre espèces de champignons testées.

Dans le 5^{ème} jour d'incubation, l'activité antifongique de tous les extraits a diminué de manière significative, sauf dans le cas de *Fusarium culmorum* face à l'extrait méthanolique qui est resté très actif (76 %) contre le champignon. Ainsi, à l'exception d'*Aspergillus ochraceus* qui a montré une certaine résistance (taux d'inhibition de 17-18%), les trois autres espèces de champignons ont montré un effet moyen (33-50%) (Tableau 8).

Tableau 8 : L'activité antifongique des extraits de fruit de *Z.Lotus* (Rsaissi et al., 2013).

Souches Extraits	<i>Penicillium italicum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Aspegillus ochraceus</i>	<i>Rhizomucor sp</i>
Etherique	41%	42%	18%	40%
Dichlorométhanique	33%	33%	17%	33%
Méthanolique	50%	76%	18%	45%
Difénoconazole	70%	50%	58%	66%

Ils ont conclu que *Fusarium culmorum* est l'espèce la plus sensible aux différents extraits de fruits de jujubier. En effet, sa sensibilité à ces extraits dépassait celle obtenue pour le fongicide (difénoconazole) utilisé dans le traitement des semences de céréales.

L' utilisation de différents solvants à polarité différente permet de séparer les composés phénoliques selon leur degré de solubilité dans le solvant d' extraction.

L'extraction par les solvants à polarité croissante a été utilisé aussi dans le cas des bactéries, d' après ce projet de fin d' étude réalisé par **Djemai Zoughlache Soumia (2009)**, les fruits du *Zizyphus lotus*, récoltés des régions de Batna pour tester l' activité antimicrobienne des souches lesquelles : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thyphimurium*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans*. 250 g de poudre ont été extraits avec 2000 ml d' éther de pétrole et placés sous agitation pendant 24h. Après filtration sur papier Wattman, le marc est ensuite mis en agitation avec 2000 ml de dichlorométhane pendant 24h, puis 2000 ml de méthanol pendant aussi 24h. Les 3 types extraits ont été concentrés sous vide au rotavapeur. Une macération aqueuse a également été effectuée sur 50 g de poudre avec 500 ml d' eau distillée et placés sous agitation pendant 24h. Après filtration, l' extrait était lyophilisé. Cette méthode d' extraction menée à température ambiante et sous agitation contenue, permet d' extraire le maximum des composants bioactifs et de prévenir leur dénaturation ou modification probable, dont la température élevée provoque l' inactivation des composés phénoliques, la diminution de leur extractibilité dans le solvant, affecte aussi leur quantification (**Hagermann et al., 2000**).

La méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé a été utilisé, pour les souches bactériennes, le milieu Mueller Hinton, et le milieu Sabouraud pour la levure. A la fin de la durée d' incubation (18-24h pour les souches bactériennes et 48h pour la levure à 37°C). Les résultats obtenus montrent que parmi les quatre extraits, l' extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (40,4%), suivi par l' extrait méthanolique (6,4%), alors que les extraits apolaires possèdent des rendements bas, dont l' extrait éthérique (0,36%) suivi par l' extrait dichlorométhanique (0,28%).

L' extrait éthérique du *Zizyphus lotus* semble avoir l' effet inhibiteur le plus puissant, parmi les quatre extraits, en présentant des zones d' inhibition de croissance avec toutes les souches microbiennes sauf *Salmonella thyphimurium*, de même cet extrait montre la plus grande zone d' inhibition, qui est apparue avec *Escherichia coli* (une zone d' inhibition > 45 mm), supérieure à toutes les zones obtenues après test des antibiotiques sur la même souche (Amoxilline 22 mm, Cefoxitine 26 mm) (**Tableau 9**).

Tableau 9 : Diamètres des zones d' inhibition de la croissance microbienne obtenus par différents extraits du *Z. lotus* (Djemai, 2009).

Souche / Extrait	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella thyphi murium</i>	<i>Candida albicans</i>
ET	22,07±0,81	45,72±0	10,32±1,65	17,16±0	-	9±0
DCM	14,13±0,58	-	-	-	-	-
MT	16,45±0,49	6,29±0,05	9,76±1,81	-	-	-
AQ	17,41±1,71	-	-	-	7±0	12±0

* (-) : pas de diamètre

Les valeurs sont une moyenne de 3 à 4 essais ± Standard déviation (SD) (les zones sont mesurées en mm).

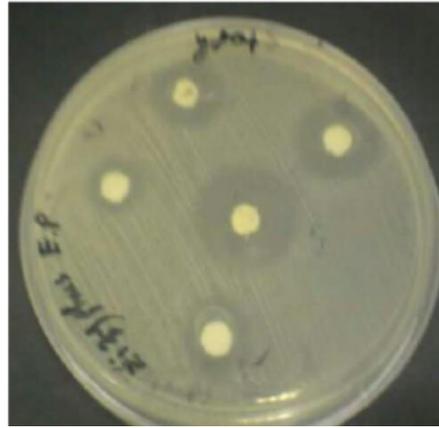
Les extraits polaires du *Zizyphus lotus* ont montré une activité antimicrobienne avec toutes les souches microbiennes sauf *Klebsiella pneumoniae*, l' extrait méthanolique a montré des zones d' inhibition avec trois souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, alors l' extrait aqueux a une activité avec *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyphimurium* et *Candida albicans*.

Les extraits polaires montrent une présence de flavonoïdes plus importante que les extraits apolaires, ceci peut être attribué à la différence du degré de polarité des flavonoïdes, dont les flavonoïdes polaires représentent la fraction la plus élevée.

Ci-dessous quelques exemples des zones d' inhibition observées sur les cultures microbiennes (**figure 13**).



Zone d' inhibitions de l' extrait méthanolique sur *Staphylococcus aureus*



Zones d' inhibition de l' extrait éthanolique sur *Staphylococcus aureus*



Zones d' inhibition de l' extrait aqueux sur *Staphylococcus aureus*.



Zones d' inhibitions de l' extrait éthanolique sur *Pseudomonas aeruginosa*



Zones d' inhibitions de l' extrait éthanolique sur *Klebsiella pneumoniae*

Figure 13 : Zones d' inhibitions obtenues par différents extraits du *Zizyphus lotus* (Djemai, 2009).

D' après ces trois études, les extraits des fruits de *Zizyphus lotus* varient en fonction du solvant utilisé. L' extrait éthanolique était le plus puissant suivi du méthanolique et enfin l' aqueux, en revanche selon la polarité croissante des solvants, l' extrait aqueux représente le rendement le plus élevé suivi du méthanolique puis éthérique et enfin le dichlorométhanique. Selon les résultats obtenus, il apparaît que toutes les souches microbiennes testées sont inhibées au moins par l' un des extraits, ce qui confirme le spectre large de l' activité antimicrobienne de ce fruit.

L' utilisation de différents solvants à polarité différente permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d' extraction.

Les extraits polaires montrent une présence des flavonoïdes plus importante que les extraits apolaires, ceci peut être attribué à la différence du degré de polarité des flavonoïdes, dont les flavonoïdes polaires représentent la fraction la plus élevée. Par ailleurs, s'avérait que le *Staphylococcus aureus* (Gram positive) est la bactérie la plus susceptible par comparaison avec les autres souches (Gram négative) ; ceci peut s'expliquer par la différence de la structure entre les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives car la paroi cellulaire des bactéries Gram positives est constituée d' une seule couche alors que la paroi cellulaire des Gram négatives a une structure multicouches liée par une membrane cellulaire externe (**Ali-Shtayeh et al.,1998**).

Concernant l'effet de ces extraits sur les mycètes, plusieurs études sur l'interaction hôte-parasite lors d'infections fongiques, ont permis de mettre en évidence la toxicité des substances phénoliques pour de nombreux champignons pathogènes en bloquant l'activité des enzymes lytiques impliquées dans l'infection. Certaines de ces substances sont induites par la pénétration du parasite dans les tissus de l'hôte avant même l'infection. Parmi ces substances, on retrouve les acides phénoliques cinnamique ou benzoïque, les flavonoïdes ou iso flavonoïdes et leurs dérivés comme cela a été rapporté par de nombreux auteurs. Ces produits chimiques sont des métabolites secondaires présents dans différentes parties de la plante (racines, feuilles, fruit...etc.) et impliqués dans les mécanismes de défense. Ils protègent la plante contre les attaques de micro-organismes pathogènes (champignons et bactéries), de virus et d'insectes (**Hariri et al., 1991 ; wink, 1999**).

2. Etude de l' activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *Zizyphus lotus*

Dans une étude faite par **Nacéra Tadjine (2019)**, les feuilles de *Zizyphus lotus* ont été récoltées dans la Région de Médéa, nord de l'Algérie. 30 g de la poudre des feuilles séchées était utilisés pour préparer les extraits (aqueux, méthanolique, de chloroforme et d'éthyle d'acétate) à des concentrations (0.628 ; 1.25 ; 2.5 ; 5 mg/ml) pour chacun d'entre-eux.

L' évaluation de l' activité antifongique a été mise en évidence par la méthode de contact direct sur le milieu PDA.

Les extraits préparés ont montré une activité antifongique contre les différents isolats fongiques testés : *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum*, *Alternaria sp* et *Aspergillus niger*. La plus grande zone d'inhibition de la croissance fongique a été démontrée par l' extrait d'acétate d'éthyle (96%) suivi d' extrait chloroforme (85%). D'autre part, les extraits méthanoliques et aqueux ont montré de faibles activités inhibitrices, l'inhibition de la croissance semble modérée pour tous les isolats fongiques à la CMI de 0,628 mg/ml, sauf pour *Aspergillus niger* (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Résultats d’Inhibition de la croissance mycélienne selon la nature et les concentrations de l’extraits de feuilles de *Zizyphus lotus* (Tadjine et al., 2019).

Extraits	Concentration (mg/ml ⁻¹)	Diamètres des zones d’ inhibition (%)			
		<i>Fusarium avenaceum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Aqueux	5	92,9	62,5	90,3	0
	2,5	70	50	86,5	0
	1.15	51	37,4	77,5	0
	0,625	47	30	40	0
Méthanol	5	97	85	86	6,42
	2,5	76	70	77,5	5,9
	1.15	72,2	51	71	0
	0,625	61,1	45	60	0
Chloroforme	5	85,9	76	90,3	28,8
	2,5	85,1	71	77,5	23,47
	1.15	74.09	64	67,7	18
	0,625	66,4	62,5	60	12
Ethyle d'acétate	5	96,3	77,5	87,5	45,6
	2,5	88,7	67,6	85,6	43,5
	1.15	70,3	56	74,5	42
	0,625	58,5	42,5	58,6	39

Selon le test de Tukey, *Fusarium avenaceum* était très significativement inhibée par le méthanol (97%) suivi par l'acétate d'éthyle, (96,3%), aqueux (92,9%) et chloroforme (85,9%), de même, aqueux et chloroforme ont montré une réduction de 90

% de la croissance d'*Alternaria sp.*, tandis que les extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol affichent une inhibition de 86% à 87%. Dans le cas de *Fusarium culmorum*, méthanol (85%) suivi d'éthyle acétate (77,5%), chloroforme (76%), aqueux (62,5%), tandis que pour *Aspergillus niger*, l'éthyle acétate (45,6%) suivi de chloroforme (28,8%) et extrait de méthanol (6,42%) présentait une activité antifongique très faible.

Le teste Tukey : c'est un test utilisé dans le cadre d'une analyse post-hoc, pour s'avoir s'il existe ou non une différence significative entre plusieurs groupes de moyennes.

Dans une autre recherche rédigée par **Meriem Elaloui (2017)**, deux extraits ont été préparé par macération : éthanolique et aqueux à partir de 1g de poudre des feuilles de *Zizyphus lotus* récolté dans la région de Kairouan (Tunis) en été 2014. La mise en évidence de l'activité antimicrobienne des différents extraits est faite par la méthode de diffusion par puits dans des conditions d'asepsie strictes, sur le milieu BTSC à trois concentrations préparées pour chaque extrait : 5 mg/ml, 60 mg/ml, 100 mg/ml.

Selon les résultats, toutes les moisissures testées *Fusarium solani*, *Botrytis cinerea* et *Fusarium culmorum* ont été affectés par différentes concentrations du plus faible au plus fort, à partir des extraits aqueux et éthanolique, avec une forte sensibilité presque de même diamètre entre (7mm et 22mm) (l'extrait éthanolique globalement efficace par rapport à l' extrait aqueux).

Cet effet important est dû au confinement des extraits éthanoliques d'une grande proportion de Tanins, par rapport à sa présence dans les extraits aqueux (**Elaloui et al., 2016**).

Pour les bactéries testées : *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, on remarque une absence de l'activité inhibitrice à faible concentration 5 mg/ml de l' extrait aqueux, sauf pour *Staphylococcus aureus* où il montre une faible activité inhibitrice, par contre dans les concentrations élevées 60 mg/ml et 100 mg/ml, l' extrait aqueux donne une activité inhibitrice très visible. Pour l' extrait éthanolique toutes les bactéries testées ont manifesté une sensibilité même à faible concentration (forte activité inhibitrice).

Les extraits (extraits/macérats) aqueux et éthanoliques issus des feuilles du *Zizyphus lotus* ont aussi un effet sur la réduction de la croissance fongique de deux souches toxigènes : *Aspergillus flavus-parasiticus* et *Aspergillus ochraceus*. Cette

activité est due aux substances bioactives qui sont riches dans les feuilles telles que les saponosides, alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, stérols et terpènes.

Dans une autre étude faite par **Slimani Alaa (2015)**, l'évaluation de l'activité antifongique des extraits/macérats aqueux et éthanolique a été réalisée par la méthode de la croissance radiale sur un milieu solide, et la méthode de la biomasse fongique sur milieu liquide.

Les résultats de la croissance radiale indiquent que le macérât éthanolique des feuilles a induit une diminution dans la croissance radiale des souches testées dont les pourcentages d'inhibitions ont été de 100% pour *Aspergillus flavus-parasiticus* et *Aspergillus ochraceus* à la concentration 2ml. Par ailleurs, les autres extraits (extrait aqueux, extrait éthanolique et le macérât aqueux) ont également induit une inhibition importante de la croissance radiale.

Les résultats de l'évaluation de la biomasse sur milieu liquide révèlent l'efficacité des extraits étudiés vis-à-vis des souches testées en fonction de l'augmentation de la concentration de ceux-ci. La meilleure inhibition a été enregistrée pour l'extrait aqueux, extrait éthanolique et le macérât éthanolique contre l'*Aspergillus ochraceus* avec des pourcentages d'inhibition de 100%, et celle de l'extrait aqueux contre *Aspergillus flavus-parasiticus* avec 69.53% à la concentration 5ml.

Les valeurs obtenues et relatives à l'évaluation de la croissance radiale sur milieu solide montrent que l'extrait des flavonoïdes des racines de la plante *Zizyphus lotus* a donné le meilleur pourcentage d'inhibition 73.3% contre l'*Aspergillus ochraceus* à la concentration $4,37 \times 10^{-1}$ mg/ml, suivi de l'extrait des flavonoïdes des grains qui a donné une inhibition de 55% contre l'*Aspergillus flavus-parasiticus* à la concentration 1.091 mg/ml.

Les résultats de l'évaluation de la biomasse sur milieu liquide montrent l'efficacité des extraits étudiés vis-à-vis des souches testées en fonction de l'augmentation de la concentration de ces dernières.

La meilleure inhibition est enregistrée pour l'extrait des flavonoïdes des grains 61.92% par rapport à l'*Aspergillus flavus-parasiticus* et 83.34% relativement à l'*Aspergillus ochraceus* à la concentration à la 1.091 mg/ml.

Non seulement les flavonoïdes contenus dans les feuilles de *Zizyphus lotus* ont un effet sur la croissance fongique et sur la production des mycotoxines des deux souches *Aspergillus flavus-parasiticus* et *Aspergillus ochraceus* productrices des aflatoxines et d' ochratoxine, les autres parties aussi possèdent cette activité qui a été prouvé par Slimani Alaa en 2019 sur le *Zizyphus lotus* qui pousse spontanément en zone saharienne telle que la région de Béchar.

L' étude du pouvoir myco-toxicologique des souches utilisées a permis de déduire que les souches *Aspergillus flavus-parasiticus* et *Aspergillus ochraceus* sont productrices respectivement d' aflatoxines et d' ochratoxine A. Les résultats cités précédemment sont confirmés par le test antimycotoxicologique sur la plaque CCM. Le test de l' inhibition de la production de ces mycotoxines s' est révélé positif par l' absence des fluorescences.

Yacine yahia (2020) a contribué dans l' étude de cette plante médicinale où il a collecté ses feuilles dans deux localités différentes, Bengardane et Oued Esseder en Tunisie (juillet 2018) qui ont été séchés, puis réduit en poudre. L' extrait préparé : l' extrait méthanolique, à concentration de 10 mg/ml.

Les résultats des tests microbiologiques, contre les souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* montrent une inhibition maximale contre *Staphylococcus aureus* avec *Z.lotus* de Bengardane. Ainsi l'extrait de feuilles d'Oued Esseder s'est révélé plus efficace contre toutes les souches bactériennes par rapport aux extraits de Bengardane. Dans cette étude, l'effet inhibiteur était supérieur à celui rapporté par **Naili (2010)** dont il a révélé qu'ils présentaient l'activité antibactérienne la plus élevée avec une zone d'inhibition allant de 7 à 18 mm, et 10 à 15 mm respectivement, contre *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* (**Tableau 11**).

Tableau 11 : résultats de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Zizyphus lotus* à 10 mg/ml contre les souches bactériennes (Yahai et al., 2020)

Micro-organismes \ Localités	Diamètres des zones d' inhibition (mm)	
	Bengardane	Oued Esseder
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12,2
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	12,2
<i>Salmonella typhimurium</i>	12,2	11,2
<i>Escherichia coli</i>	10,6	11,8

D' après ces études, il en ressort que l' activité antifongique testée par les différents extraits des feuilles de *Zizyphus lotus* dépend de : la nature du solvant utilisé pour préparer l' extrait car c' est elle qui va extraire et faire sortir toutes les substances bioactives de la plante qui sont responsables de cette activité.

- Les extraits alcooliques sont efficaces à 100% pour inhiber la croissance fongique par rapport aux extraits aqueux, car tous les flavonoïdes et les polyphénols qui résident dans les feuilles sont ressortis dans ces extraits.

- L' extrait aqueux ne permet de ressortir que des tanins et faibles quantités de saponines car la concentration de l' extrait est faible par rapport aux autres.

- L' inhibition de l' activité antifongique des différents extraits est due à l' effet toxique des composants d' extraits végétaux sur la fonctionnalité et la structure de la membrane cellulaire des mycètes.

3. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits des écorces des racines de *Zizyphus lotus*

Dans un projet de fin d' étude réalisé par **Lahmer Nadjjet et Messai Soumia en 2017** sur les écorces des racines du *Zizyphus lotus*, récoltées de la région de Mila, ils ont préparé deux extraits, en macérant 37,5 g de la poudre séchée dans 500 ml de méthanol pendant 24h à température ambiante, ensuite l' ensemble est filtré et évaporé à sec sous pression réduite à 52°C. D'autre part 50 g de la poudre végétale est macérée dans une 500 ml d' eau distillée pendant 24h à température ambiante (environ 20°C), l' ensemble est filtré sur du papier filtre, ensuite lyophilisé pour le réduire en poudre. Des concentrations de : 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4,5 mg/ml, 6 mg/ml ont été effectuées pour chaque extrait.

La lyophilisation permet par un processus de sublimation d' extraire l' eau d' un produit préalablement congelé. Le procédé a lieu sous vide avec une température du produit inférieure à -10°C (**Delphine, 2008**).

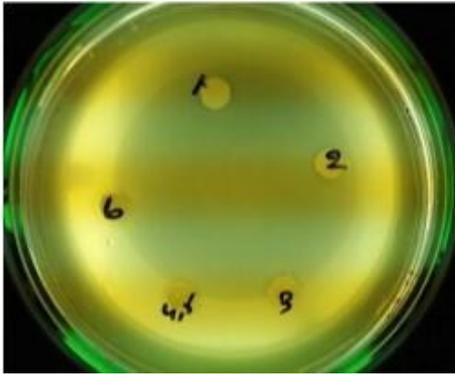
L' activité antimicrobienne a été mise en évidence par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller Hinton) pour tester les souches suivantes : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour l' extrait méthanolique les grandes zones d' inhibition apparaissent sur *Staphylococcus aureus* (8,33-10,80 mm) et *Escherichia coli* (7,33-9,00 mm), et pour les deux autres souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*, les zones d' inhibition n' apparaissent qu' aux concentrations de 3, 4,5 et 6 mg/ml (**Tableau 12**).

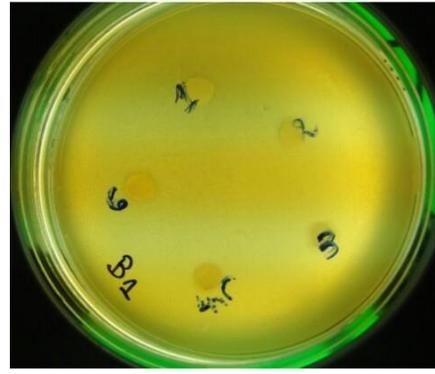
Tableau 12 : Diamètres des zones d' inhibition de la croissance microbienne (mm) obtenus par différentes concentrations du l' extrait méthanolique (**Lahmer et Messai, 2017**).

Concentration (mg/ml)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1	8,33	7,33	0	0
2	8,70	7,70	0	0
3	9,36	8,16	7,26	0,78
4,5	10,10	8,50	7,70	0,83
6	10,80	9	8,30	0,88

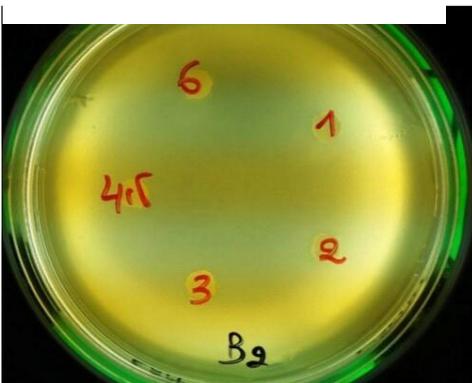
Ci-dessous quelques exemples des zones d'inhibition observées sur les cultures microbiennes de l'extrait méthanolique (**figure 14**).



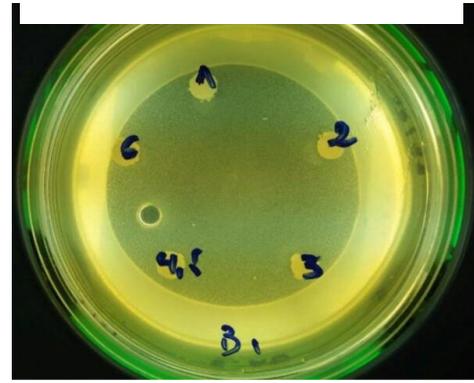
Zone d'inhibition (mm) de
Staphylococcus aureus



Zone d'inhibition (mm)
d' *Escherichia coli*.



Zone d'inhibition (mm) de
Pseudomonas aeruginosa.



Zone d'inhibition (mm) de
Bacillus subtilis.

Figure 14 : Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de l' extrait méthanolique sur les bactéries testées (Lahmer et Messai, 2017).

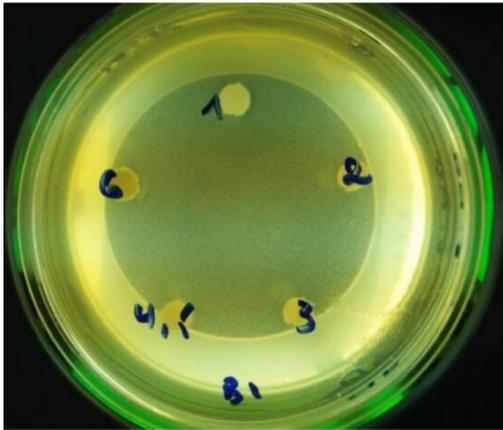
Alors que pour l' extrait aqueux, il y a une inhibition uniquement aux fortes concentrations (4,5 et 6 mg/ml) contre trois souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* (une faible activité). *Pseudomonas aeruginosa* montre un résultat négatif (pas d' inhibition), ci-dessous quelques exemples des zones d'inhibitions observées sur les cultures microbiennes (**figure 15**).

Ces résultats confirment le spectre étroit de l' activité de cet extrait. Donc, il y a une activité antimicrobienne à concentration dépendante dans les deux extraits avec une différence hautement significative (**Tableau 13**).

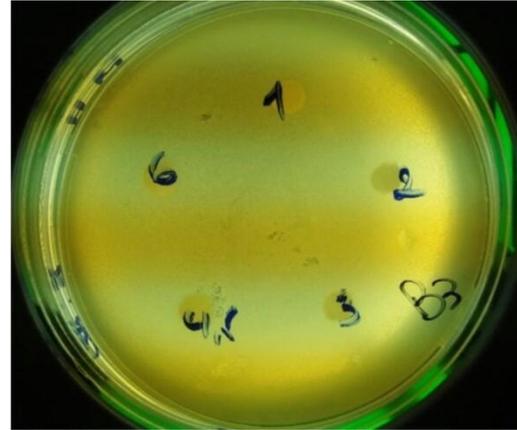
Tableau 13 : Diamètres des zones d' inhibition de la croissance microbienne (mm) obtenus par différentes concentrations dans l' extrait aqueux (**Lahmer et Messai, 2017**).

Concentration (mg/ml)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4,5	6,36	7,06	0	6,46
6	6,96	7,60	0	7,23

Ci-dessous quelques exemples des zones d'inhibitions observées sur les cultures microbiennes de l'extrait aqueux (**figure 15**).



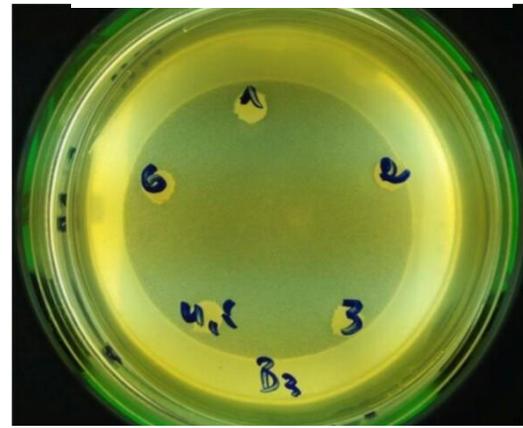
Zone d'inhibition (mm) de
Pseudomonas aeruginosa



Zone d'inhibition (mm) de
Bacillus subtilis.



Zone d'inhibition (mm) de
Staphylococcus aureus



Zone d'inhibition (mm)
d' *Escherichia coli*

Figure 15 : Photos représentatives des zones d'inhibition (mm) de l' extrait aqueux sur les bactéries testées (Lahmer et Messai, 2017).

Rocchetta (2020), a fait une étude sur les racines de *Z. lotus* du sud-est tunisien (Boughara) récolté en avril 2015. Dans cette recherche, les extraits sont préparés par deux méthodes différentes : la méthode d'extraction assistée par ultrasons et par extraction conventionnelle, et leurs activités ont été testé sur 3 bactéries : *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria innocua*.

Il a remarqué que *S.aureus* était le micro-organisme le plus sensible pour les extraits de *Z.lotus*, avec une grande réduction significative et un taux de croissance (entre 47 et 52 %) indépendamment des modes de l'extraction ou la composition de l'extrait. En

général, l'extraction par la méthode assisté par ultrasons montre une inhibition légèrement plus élevée du taux de croissance de *S.aureus* par rapport à la méthode conventionnelle, suivi de *S.enterica*, seul l'extrait aqueux avec la méthode UAE a montré un effet, réduisant le taux de croissance de 48 %. De même que les résultats trouvés pour *S.enterica*, les extraits aqueux de *zizyphus lotus* obtenu après l'utilisation de la méthode d' extraction assisté par ultrasons ont montré une diminution du taux de croissance de *L.innocua*, suivi de l'extrait hydroéthanolique

Autre étude menée par **Medjkane (2017)** testant des extraits alcooliques obtenus à partir de racine de *Z.lotus* montre que la meilleure zone d'inhibition de croissance bactérienne était observée contre *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus aureus* parmi 12 souches de bactéries pathogènes testées.

Ayaz en (2017) ont élucidé l'influence des extraits de *Ziziphus lotus* sur la croissance bactérienne de certains probiotiques bactériens, entre autres *Lactobacillus*. Ils ont observé que *Lactobacillus casei* montre la meilleure sensibilité contre l'extrait obtenu à partir de cette plante par rapport aux trois autres bactéries du même genre (*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus jensenii*).

Les différentes études sur l'écorce des racines démontrent :

- La sensibilité des micro-organismes aux différents extraits de cette plante est bien corrélée avec la méthode d'extraction et/ou le solvant utilisé.
- L'extrait de *Z.lotus* montre une grande réduction significative de bactérie Gram négative ou Gram positive indépendamment des modes de l'extraction ou de la composition de l'extrait.
- La teneur en flavonoïdes et tanins des extraits de la plante a également un effet sur la croissance bactérienne.
- Plusieurs facteurs ont une influence sur le taux de croissance de différentes bactéries : La méthode d'extraction, la quantité utilisée de poudre, la concentration d'extraits et extrait utilisé.

Conclusion générale

Les données des travaux scientifiques étudiée fournissent une base scientifique pour expliquer l'utilisation des espèces végétales comme le *Zizyphus lotus* en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner les différentes maladies et les infections.

L'activité biologique *in vitro* des extraits testés des différentes parties du *Zizyphus lotus* (fruits, feuilles et racines), nous a permis d'extraire des résultats curieux qui montrent que tous les extraits testés sont actifs. D'ailleurs toutes les souches microbiennes testées (bactéries et levures) sont inhibées au moins par l'un des extraits, ce qui confirme le spectre large de l'activité antimicrobienne de cette plante, cette dernière dépend de la méthode d'extraction, la quantité utilisée de poudre, la concentration d'extraits et le solvant utilisé.

Les analyses qualitatives effectuées ont mis en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins et des saponines dans les différents extraits utilisées (éthanolique, méthanolique, aqueux, éthériques...ect).

Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique présente une activité inhibitrice la plus élevée vis-à-vis les micro-organismes testés, et que la bactérie à Gram positif sont les plus sensibles alors les bactéries à Gram négatif se sont avérées moins sensibles. Cette activités à cause dconcentration de polyphénols, flavonoïdes et tanins plus importante que les autres extraits. L'extraction par macération semble la meilleure méthode d'extraction, utilisée depuis longtemps pour extraire les substances bioactives à partir des écorces d'arbres, ou à partir des fruits et des feuilles. Elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais en revanche, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est peu sélective.

Cependant ces résultats restent insuffisants et non concluants parce que pour juger une méthode qu' elle est la plus adaptée pour, il faut passer par plusieurs expériences qui doivent s' effectuer dans les mêmes conditions de laboratoire pour les différentes techniques d' extraction, ensuite on peut faire la comparaison entre leurs rendements, ce qui va permettre de trancher et enfin désigner la meilleure entres elles en matière d' extraction.

Il serait donc intéressant d' accomplir ces études par d' autres visant à adopter et optimiser une méthode d' extraction des molécules bioactives plus rentables et aussi d'étendre l'éventail des tests antimicrobiens (tester autres microorganismes pathogènes).

Références bibliographiques

A

Abdoul-Azize S. ; Bendahmane M. ; Hichami A.(2013) Effects of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. Polyphenols on Jurkat cell signaling and proliferation. International Immunopharmacology, 15 (N° 2), P 364-371.

Abdoul-Azize S. (2016) Potential Benefits of Jujube *Zizyphus Lotus* (L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. Journal of nutrition and metabolism.

Abeddaim M. ; Lombarkia O. ; Bacha A.(2014) Biochemical characterization and nutritional properties of *Zizyphus lotus* (L.) fruits in Aures region north eastern of Algeria. Food Science and Technology, 15, P 75-81.

Akowuah G.A. ; Zhari I. ; Norhayati I. ; Sadikun A. et Khamsah S. M. (2004) Sinensetin, eupatorin, 3'-hydroxyl-5, 6, 7, 4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidant effect of *Orthosiphon stamineus* from Malaysia. Food Chemistry, 87, P 559-566.

Agyare, C., Asase, A., Lechtenberg, M., Niehues, M., Deters, A., & Hensel, A. (2009). An ethnopharmacological survey and in vitro confirmation of ethnopharmacological use of medicinal plants used for wound healing in Bosomtwi-Atwima-Kwanwoma area, Ghana. Journal of Ethnopharmacology, 125(3), 393-403.

Amara M. et Benabdelik. (2020) Potentialités écologiques de *Zizyphus lotus* et possibilités de développement durable des espaces arides : cas de la région de Naâma (Algérie). Geo-Eco-Trop. P 271.

Anton R. et Max Wichtl. (2003) Plantes thérapeutiques Tradition, Pratique officinale Science et Thérapeutique. Tec et Doc. P 32-33.

Arora D. et Kaur G. (2007) Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. Journal of Natural Medicines, 61, P 313-317.

Arsene A. L. ; Rodino S.; Butu A.; Petrache P. ; Iordache O. ; Butu M. (2015) Study on antimicrobial and antioxidant activity and phenolic content of ethanolic extract of *Humulus lupulus*. Farmacia, 63 (N° 6), P 851-857.

B

Baba Aissa F. (1999) Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d' Algérie et du Maghreb Substance végétale. Edition Librairie Moderne. Rouiba. P 145.

Bahorum T. (1997) Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source d' approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias. P 83-94.

Bakhtaoui F. Z. ; Lakmichi H. ; Megraud F. ; Chait A. ; et Gadhi C. E. A. (2014) Gastro-protective, anti-Helicobacter pylori and, antioxidant properties of Moroccan *Zizyphus lotus (L.)*. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 4 (N° 10), P 81-87.

Bellakhdar J. (1997) La Pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoir populaires - Saint – Etienne. ed TEC et DOC. Ibis press. Paris. P 464-465.

Benammar C. ; Hichami A. ; Yessoufou A.(2010) *Zizyphus lotus (L.)* Desf. modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. BMC Complementary and Alternative Medicine, 10, P 54.

Benammar C. ; Baghdad C. ; Belarbi M. ; Subramaniam S. ; Hichami A. ; et Khan N. A. (2014) Antidiabetic and antioxidant activities of *Zizyphus lotus (L.)* aqueous extracts in Wistar rats. Journal of Nutrition & Food Sciences.

Benkhalti F. ; Prost J. ; Paz E. ; Perez-Jimenez F. ; Modafar C. E1. ; et Boustani E. E1. (2002) Effects of feeding virgin olive oil or their polyphenols on lipid of rat liver. Nutrition Research, 22 (N° 9), P 1067-1075.

Benkiki N. (2006) Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : Ruta montana, Matricaria pubescens et Hypericum perforatum. Thèse de doctorat. Batna : Univ. HaDj Lakhdar.

Beta T. ; Nam S. ; Dexter J. E. et Sapirstein H. D. (2005) Phenolic content and antioxydants Activity of Pearledwheat and Roller-Milled. Fractions. Cereal chem, 82 (N°4), P 390-393.

- Boizot N. et 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. P 79-82.
- Bonnet J. (2001)** Larousse des arbres. Dictionnaire des arbres et des arbustes. P 512.
- Borgi W. et Chouchane N. (2006)** Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.). Revue des Régions Arides. P 283-286.
- Borgi W. ; Ghedira K. ; Chouchane N. (2007)** Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. Fitoterapia, 78, P 16-19.
- Borgi W. ; Recio M. C. ; Rios J. L. ; Chouchane N. (2008)** Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) South African Journal of Botany, 14, P 320-324.
- Borgi W. et Chouchane N. (2009)** Anti-spasmodic effects of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. Extracts on isolated rat duodenum. Journal of Ethnopharmacology, 126 (N° 3), P 571-573.
- Boukef K. (1986)** Les Plantes Dans la Médecine Traditionnelle Tunisienne: Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris, France.
- Boulanouar B. ; Abdelaziz G. ; Aazza S. ; Gago C. ; et Miguel M. G. (2013)** Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. Industrial Crops and Products, 46, P 85-96.
- Boumaza D. (2011)** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d' Oran. Mémoire de magister. Oran : Univ. Mohamed Boudiaf, P 39.
- Bruneton J. (1993)** Pharmacognosie phytochimie. Plantes médicinales. 2ème édition. P 915.
- Bruneton J. (1999)** Flavonoïdes, Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. 3eme Edition : TEC et DOC. Paris. P 310-340.

C

Cetkovic G. ; Canadanovic-Brunet J. ; Djilas S. ; Savatovic S. ; Mandic A. ; Tumbas V. (2008) Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109, P 340-34.

Chehma A. (2006) Etude floristique et Nutritive des parcours camelins du Sahara Septentrional Algérien (cas des régions de Ouargla et Ghardaïa : Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien). Ouargla : Université Kasdi Merbah, P 124.

https://www.researchgate.net/publication/281594314_Diversite_et_utilisation_des_plantes_spontanees_du_Sahara_septentrional_algerien_dans_la_pharmacopee_saharienne_Cas_de_la_region_du_Souf/link/55ef7cf008ae199d47c01703/download

Chouaibi M. ; Mahfoudhi N. ; Rezig L. ; Donsi F. ; Ferrari G. ; Hamdi S. (2012) Nutritional composition of *Zizyphus lotus (L.)* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, P 1171-1177.

Claudine R. (2007) Le nom de l' arbre : le grenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l' arbousier. Actes sud le Majan. 1er Edition. France. P 45-62.

Cowan M. M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Chemical microbiology reviews*, 12 (N° 4), P 564-570.

D

Dahlia F. (2019) Analyse de variabilité des fruits de quelque population de Jujubier sauvage (*zizyphus lotus (L.)* Desf.) en Algérie. These en doctorat en sciences. Tiart : Université Ibn khaldoun.

DJEMAI ZOUGHLACHE, S. O. U. M. I. A. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus L* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

Diouf P. N. ; Stevanovic T. ; Cloutier A. (2009)

Study on chemical composition, antioxidant and antiinflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions.

Food chemistry, 113 (N° 4), P 897-902.

Dupont F. et Guignard J. L. (2012) Botanique, Les Familles de Plantes. Elsevier. P 136.

Dobignard, A., Chatelain, C., Fischer, M., Orso, J., & Jeanmonod, D. (2013). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord: Dicotyledoneae: Oleaceae-Zygophyllaceae. Conservatoire et Jardin botaniques.

E

Edenharder R. et Grünhage D. (2003) Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert butylhydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. Mutat. Res, 540, P 1-18.

Elaloui M. ; Laamouri A. ; Albouchietal A. (2014) Chemical compositions of the tunisian *Ziziphus jujuba* oil. Emirates Journal of Food and Agriculture, 26 (N° 7), P 602-608.

Eriksson, K. E., Islam, S., Karlsson, S., & Mhansson, B. (1984). Alcamo, Joseph, Water and tire: Water needs of future coal development in the Soviet Union and the United States Attanasi, Emil D., Government investment in mineral resource information on leasable public lands: The case of strippable coal Blomquist, Glenn, The 55 mph speed limit and gasoline consumption. Resources and Energy, 6, 411.

Eymard. (2003) Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat. France: Univ. Nantes, P 28-38.

G

Ghalem M. ; Merghache S. et Belarbi M. (2014) Study on the antioxidant activities of root extracts of *Zizyphus lotus* from the western region of Algeria. Pharmacognosy Journal, 6 (N° 4), P 32-42.

Ghazanfar S. A. (1994) Handbook of Arabian medicinal plants. Boca Raton: CRC Press.

Ghazghazi H. ; Aouadhi C. ; Riahi L. ; Maaroufi A. ; et Hasnaoui B. (2014) Fatty acids composition of Tunisian *Zizyphus lotus* (L.) Desf. fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. Natural Product Research, 28 (N° 14), P 1106-1110.

Ghedira K. ; Chemli R. ; Richard B. ; Nuzillard J. M. ; Zeches M. ; et LeMen-Olivier L. (1993) Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. Phytochemistry, 32 (N° 6), P 1591-1594.

Ghedira K. (1995) Études des parties aériennes d' *Ajuga reptans* L Schreb et des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. Thèse d' État ès sciences pharmaceutiques, faculté de pharmacie. Monastir (Tunisie).

Ghedira K. ; Chemli R. ; Caron C. ; Nuzillard J. M. ; Zeches M. (1995) Le Men-Olivier L: Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. Phytochemistry, 38, P 767-772.

Ghedira K. (2013) *Zizyphus lotus* (L.) Desf (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. Phytothérapie, 11, P 149-153.

Girotti, M., Pace, T. W. W., Gaylord, R. I., Rubin, B. A., Herman, J. P., & Spencer, R. L. (2006). Habituation to repeated restraint stress is associated with lack of stress-induced c-fos expression in primary sensory processing areas of the rat brain. Neuroscience, 138(4), 1067-1081.

Ghost A. et Lysias Derrida C. (2007) Jujube Fruit: a magic fruit berry for emotion controlling and more. Pure Herb and extract processing and formation.

Gorai M. ; Maraghni, M. ; Neffati M. (2010) Relationship between phenological traits and water potential patterns of the wild jujube *Zizyphus lotus* (L.) In southern Tunisia. Plant Ecology & Diversity, 3, P 273-280.

H

Hammi H. ; Mkadmini K. H. ; Jdey ; Abdelly CH. ; Majdoub H. ; Ksouri R. (2015) Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from

Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology. Food Chemistry, 184, P 80-89.

Handa S. S. ; Khanuja S. P. S. ; Longo G. ; Rakesh D. D. (2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology.

Hariri E.B. ; Sallé G. ; Andary C. (1991) 'Involvement of flavonoids in the resistance of two popular cultivars to mistletoe (*Viscum alb L.*)', Protoplasma, 162 (N°1), P 20-26.

Haslam E. (1989) Plant polyphenols. vegetale tannins revisited Cambridge. University Pres,Combridge. P 230.

Havsteen B. H. (2002) The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Edition Nov-Dec. Pharmacol Ther, 96 (N°2-3), P 67-202.

Heler R. ; Esnault R. et Lance C. (2000) Physiologie végétale et développement. Dunod. Paris. P 366.

Hennebelle T. ; Sahpaz S. et Bailleul F. (2004) Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 1, P 3-6.

Herbert R. B. (1989) The Biosynthesis of secondary metabolites. 2éme Edition: Chapman and Halle. P 2, 11-115.

Herodez S. ; Hadolinb M. ; Skergeta M. et Zeljko Knez. (2003) Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves. Food Chemistry, 80, P 275- 282.

J

Jones W. P. ; Kinghorn A. D. (2005) Extraction of plant secondary metabolites. In: **Sarker S. D. ; Latif Z. ; Gray A.I.** (eds) Natural Products Isolation, 20. Methods in Biotechnology. Humana Press.Totowa. P 323-351.

Jürgen R. ; Paul S. ; Ulrike S. ; et Reinhard S. (2009) Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview : Forsch Komplement Med, 16, P 79-90.

K

Kang C. ; Hah D. ; Kim C. ; Kim Y. ; Kim E. ; Kim J. (2011) Evaluation of Antimicrobial Activity of the Methanol Extracts from 8 Traditional Medicinal Plants. *Toxicological Research*, 27, P 31-36.

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

L

Laamouri A. ; Ammari Y. ; Albouchi A. ; Sghaier T. ; Mguis K. et Akrimi N. (2008) Etude comparative de la croissance et du développement du système racinaire de trois espèces de jujubier en Tunisie. *Geo-Eco-Trop*, 32, P 37- 46.

Lafon J. P. ; Tharaud-Prayer C. ; Levy G. (1990) Biologie des plantes cultivées. Tome 2. Physiologie du développent génétique et amélioration. Lavoisier. Paris. P 172.

Lahlou M. ; El Mahi M. et Hamamouchi J. (2002) Evaluation of antifungal and molluscidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 60 (N° 6), P 410-414.

Lahmer, N., & Messai, S. (2017). Étude phytochimique et biologique des extraits aqueux et méthanolique des écorces des racines du *Zizyphus lotus* (L). Mémoire de Master: Biochimie/Biochimie moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri Constantine.

Laouedj M. (2018) Les Plantes médicinales du Sahara. Les bienfaits du jujubier sauvage...«sidr» en arabe [en ligne], (page consulter le 11-04-2021)

<http://lesplantesmedicinalesdusahara.blogspot.com/2018/05/tops-des-traitements-naturels-pour-la.html>.

Le Crou'eur G. ; Th'épenier P. ; Richard B. ; Petermann C. ; Ghedira K. et Z'eches-Hanrot M. (2002) Lotusine G : a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*. *Fitoterapia*, 73 (N° 1), P 63-68.

M

- Maciuk A. ; Ghedira K. ; Thepenier P. ; Lavaud C. et Zeches Hanrot M. (2003)** A new flavonol glycoside from leaves of *Zizyphus lotus*. *Pharmazie*, 58 (N° 2), P 158-159.
- Maciuk A. ; Lavaud C. ; Th'epenier P. ; Jacquier M. J. ; Ghedira K. et Z'eches Hanrot M. (2004)** For new dammarane saponins from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, 67 (N° 10), P 1639-1643.
- Macheix J. ; Fleuriet A. et Jay allemand C. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechnologiques et uni-versitaires romandes. P 4-5.
- Macheix, J. J. ; Fleriet, A. et Christian, A. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- Makino R. ; Ohara S. ; Hashida K. (2009)** Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. *Journal of Tropical Forest Science*. P 45-9.
- Maraghni M. et Neffati M. (2014)** Differential responses to drought stress in leaves and roots of wild jujube, *Zizyphus lotus*. *Actaphysiologiae plantarum*, 36 (N° 4), P 945-953.
- Mazliak P. (1982)** Croissance et développement. *Physiologie végétale*. Tome2. Hermann. Paris. P 465.
- Meyer S. ; Reeb C. ; Bosdeveix R. (2004)** Botanique, biologie et physiologie végétale. Moline. Paris. P 461.
- Miransari M. et Smith D. L. (2014)** Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, P 110-121.
- Mounni S. (2008)** Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtis australis L.*, *Crataegus azarolus L.*, *Crataegus monogyna Jacq.*, *Elaeagnus angustifolia L.*, et *Zizyphus lotus L.* Mémoire de Magistère en Agronomie. Université de Batna.

Motiejūnaite, J., Czyzewska, K., & Ciesliński, S. (2004). LICHENS--INDICATORS OF OLD-GROWTH FORESTS IN BIOCENTRES OF LITHUANIA AND NORTH-EAST POLAND. *Botanica Lithuanica*, 10(1).

N

Nanson A. (2004) Génétique et amélioration des arbres forestiers. Les Presses Agronomiques de Gembloux. Belgique.

Narayana K. R. ; Reddy M. S. ; Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. (2001) Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33, P 2-16.

O

Odunayo R. A. ; Ibukun E. A. ; Tayo A. ; Toyin A. ; Tolu O. (2007) In vitro antimicrobial activity of crude extract from plants *Bryophyllum pinnatum* and *Kalanchoe crenata*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, 4 (N° 3), P 338-344.

P

Parrek O. P. (2001) Ber.Southampton, UK : International Centre for Under utilised crops pub.

Peronny S. (2005) La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d' histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie. P 151.

Pottier, J., Cousty, C., Heitzman, R. J., & Reynolds, I. P. (1981). Differences in the biotransformation of a 17 β -hydroxylated steroid, trenbolone acetate, in rat and cow. *Xenobiotica*, 11(7), 489-500.

Q

Quezel P. et Santa S. (1962) Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome2. Centre national de la recherche. Paris. P 565.

R

Raissain. (2012) Revue Marocain de protection des plantes. Importance et impact agro-économique de jujubier (*Zizyphus lotus*) dans la Chaouia. (N° 3), P 13.

Raven P. H. ; Evert R. f. ; Eichhon S. E. (2003) Biologie végétale. 1ère Édition. De Boeck université, ISBN. P 565.

Renault J. H. ; Ghedira K. ; Thepenier P. ; Lavaud C. ; Zeches Hanrot M. et Le Men-Olivier L. (1997) Dammarane saponins from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, 44 (N° 7), P 1321-1327.

Rice-Evans C. A. et Packer I. (1998) Flavonoids in Health and Disease. Edition marcel dekker. P 61-160.

Routray W. et Orsat V. (2012) Microwave assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5 (No 2), P 409-24.

Rsaissi N. et Bouhache M. (2002) La lutte chimique contre le jujubier. Transfert de technologie en agriculture. p 94.

Rsaissi N. ; EL Kamili. ; Bencharki B. ; Hillali L. et Bouhache M. (2013) Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube *Zizyphus Lotus (L.)* Desf. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 4, P 1521-1528.

S

Samy, R. P., Pushparaj, P. N., & Gopalakrishnakone, P. (2008). A compilation of bioactive compounds from Ayurveda. *Bioinformation*, 3(3), 100

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006) Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier. P 2-10.

Soltner D. (2007) Les bases de la production végétale. Tome III, la plante. Collection sciences et technique agricole. Paris. P 304.

T

Tamaguelt O. et Amzal H. (2016) Optimisation d' extraction assistée aux ultrasons de composés phénoliques et l' activité antioxydante des différentes parties de *Zizyphus jujuba* (feuilles, pulpe et graines).

Tapiero H. ; Tew K. D. ; NguyenBa G. ; et Math´e G. (2002) Polyphenols : do they play a role in the prevention of human pathologies?. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56 (N° 4), P 200-207.

Tardío J. ; Sánchez-Mata M. C. ; Morales R. ; Molina M., et al. (2016) Chapter 13 Ethnobotanical and Food composition Monographs of Selected Mediterranean Wild Edible Plants. Springer Science + Business Media New York. P 273-470.

V

Vallee C. ; Bilodeau G. ; Cegep J. D. L. (1999) Les techniques de culture en multicellulaires. Institut Québécois du développement de l'horticulture ornementale. *Technology and Engineering*. P 394.

Vannette. (2018) Note de terrain Botanique par l' image. NOTESDETERRAIN.OVER-BLOG.COM [en ligne], (consulter le 11-04-20121) <https://notesdeterrain.over-blog.com/2018/08/jujubier-sauvage.html>.

Vardar-Ünlü G. ; Candan F. ; Sökmen A. ; Daferera D. ; Polissiou M. ; Sökmen M. ; Dönmez E. ; Tepe B. (2003) Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch et Mey *Var pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, P 63-67.

Verpoorte R. et Alfermann A.W. (2000) *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Edition Kluwer Academic. P 1-23.

W

Wang L. et Waller C. L. (2006) Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, P 300-312.

Wang J. et Mazza G. (2002) Effect of Anthocyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW.264.7. Macrophages. *J.Agric.Food.Chem*, 50, P 4183-4189.

Wink M. (1999) Function of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology. Sheffield Academic Press and CRC Press, Annual Plant Rev. 3, P 362.

Y

Yahia Y, Benabderrahim MA, Tlili N, Bagues M, Nagaz K (2020) Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from different plant parts of two *Ziziphus* Mill. species. PLoS ONE 15(5): e0232599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232599>

Yao L. H. ; Jiang Y. M. ; SHI J. ; Tomas-Barberan F. A. ; Datta N. ; Singanusong R. et Chen S. S. (2004) Flavonoids in Food and their health benefits. Plant Food Human Nutrition, 59, P 113-122.

Z

Zeghad N. (2009) Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d' intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de Doctorat. Algérie : Université Mentouri, Constantine, P 96.

Zimmer N. et Cordesse R. (1996) Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. Edition INRA. Prod Anim, 9, P 167-179.

Yamina SEDRATI

Aya MADI

Mémoire présenté en vue de l' obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Écologie microbienne

Thème :

Activité antimicrobienne de la plante médicinale *Zizyphus Lotus*

Résumé

Zizyphus lotus est connue en Algérie sous plusieurs noms (Sidr ou le nebek), cette plante a depuis toujours été utilisée en médecine traditionnelle, pour traiter plusieurs maladies respiratoires, digestives et même la glycémie. Au titre de ce mémoire, on a voulu connaître son activité contre les micro-organismes, en étudiant les différentes parties de la plante (Les feuilles, les fruits et les racines), en évaluant des études scientifiques antérieures avec différentes expériences et méthodes.

La majorité des expériences ont montré que divers extraits avaient un effet contre les micro-organismes, avec des intensités différentes, et cela est dû à la quantité qu'ils contiennent sur les tanins et les flavonoïdes, en plus de la méthode d'extraction et de la qualité de l'extrait utilisé.

Mots-clés : *Zizyphus lotus*, extraction, activités antimicrobienne, tanins, flavonoïdes.

Membres du jury:

Présidente du jury : BOULTIFET Linda (MCB- UFM Constantine).

Rapporteur : MERGOUD Lilia (MAA- UFM Constantine).

Examinatrice : BOUCHLOUKH Warda (MCB- UFM Constantine).

Année universitaire : 2020/2021