



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche
Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques / Biotechnologies / Écologie et Environnement

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Étude phytochimique et activités antimicrobiennes des extraits de

Ziziphus lotus

Présenté par : Boulacheb Nada
Benabidi Aya
Derdouri chahinaz

Le : 11/06/2024

Jury d'évaluation :

Président : Mme. MEZIANI Meriem. (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine1).

Encadrant : Mme. BENKAHOUL Malika. (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur: Dr. TOUMI Mohammed. E. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2023 - 2024

Remerciements

Avant tout propos, nous remercions ALLAH le tout Puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté Jusqu'au bout pour réaliser ce travail.

*Nous tenons à remercier notre encadreur **Mme. BENKAHOUL Malika** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grandir goureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

Nous avons remercié également les membres de jury :

***Mme. MEZIANI Meriem** (M.C.A-UFM Constantine) Pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury*

***Dr. TOUMI Mohammed Es-seddik** (M.C.B-UFM Constantine) Pour avoir bien voulu examiner notre travail.*

pour leur temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail. Merci à tous les membres de département de Microbiologie.

Nous remercions vont également à tous les professeurs et les enseignants qui ont veillé sur notre bonne formation durant le cursus Universitaire depuis notre premier cycle d'étude jusqu'a à la fin de l'année universitaire

Dédicace

Nous dédions ce mémoire à nos chers parents qui n'ont cessé de nous soutenir et de nous encourager pour l'accomplissement de ce travail.

Une mention particulière à notre corps enseignant à leur tête notre encadreur qui par son abnégation et son accompagnement sans relâche a suscité en nous une grande motivation facteur fondamental quant à la réussite de notre parcours scientifique.

Boulacheb Nada et Benabidi Aya et Derdouri Chahinaz

Table de matière

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

Les abréviations

Introduction.....2

Chapitre 1 : Généralités sur *Ziziphus lotus*

1. Description botanique	4
2. Nomenclature	6
3. Classification	7
4. Répartition géographique	8
4.1. Répartition dans le monde	8
4.2. Répartition en Algérie	8
5. Caractéristiques écologiques	9
6. Utilisations de <i>Z. lotus</i>	9
6.1. Utilisation alimentaire	9
6.2. Utilisation médicinale	10
6.3. Autres utilisations	10

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires

1. Définition des métabolites secondaires	12
2. Les rôles des métabolites secondaires	12
3. Les familles des métabolites secondaires	12
3.1. Les terpènes	13
3.2. Les Alcaloïdes	13
3.3. Les Composés phénoliques	13
3.3.1. Définition des polyphénols	13
3.3.2 Classification des polyphénols	14
3.3.3. Les principales classes de polyphénols	15
A / Les flavonoïdes	15
B/ Les tanins	18

Table de matière

Chapitre 3 : Les propriétés phytochimiques de la plante

1. Composition biochimique de <i>Ziziphus lotus</i>	23
1.1. Métabolites primaires	23
1.2. Métabolites secondaires	23
2. Les activités biologiques de <i>Ziziphus lotus</i>	24
2.1. Activité antioxydant	24
2.2. Activité antibactérienne et antifongique	24
2.3. Activité antiinflammatoire et Immunomodulatrice	24
2.4. Activité analgésique	25
2.5. Activité antiulcérogène et gastroprotecteur	25

Matériel les Méthode

1. Matériel et méthodes	27
1.1. Matériel biologique	27
1.2. Matériel et réactifs	27
1.3. Extraction	28
1.4. Analyse quantitative des extraits de <i>Ziziphus lotus</i>	31
1.4.1. Dosage des polyphénols	31
1.4.2. Dosage des flavonoïdes	32
1.4.3. Evaluation de la présence des tanins condensés	33
1.4.4. Etude in vitro de l'activité antioxydante (anti-radicalaire au DPPH)	33
1.4.5. Activités antimicrobiennes (Diffusion de puits)	34

Résultats et discussion

1. Rendements en extraits	37
2. Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes	38
2.1. Dosage des composées phénoliques	38

Table de matière

2.2. Dosage des flavonoïdes	39
2.3. Analyse statistique	40
3. Evaluation de la présence des tanins condensés	42
4. Activité anti-radicalaire au DPPH	42
5. Activité antimicrobienne	44
6. Activité antifongique	46
Conclusion	49

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances naturelles bioactives, qui ont des applications dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux. *Ziziphus lotus* est une plante médicinale traditionnellement herbacée. Le présent travail consiste à évaluer la richesse des fruits de cette plante en polyphénols totaux et flavonoides. Aussi l'effet antioxydant et l'activité antimicrobienne (antifongique et antibactérienne) des différents extraits préparés à partir du fruit *Ziziphus lotus*, ont été examinés. L'extraction fractionnée après macération de 24h en utilisant des solvants de polarités croissantes a permis de calculer les rendements qui été égal à 0,75% ; 5,70% et 0,40% pour l'hexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle respectivement. La composition de ces extraits en polyphénols, flavonoïdes et en tanins est évaluée en adoptant les méthodes de Folin-Ciocalteu, $AlCl_3$, Vanilline respectivement. Les résultats montrent que l'extrait acétate d'éthyle donne les plus importants taux en polyphénols totaux ($281,33 \pm 1,5 \mu\text{g EAG /mg d'extrait}$), en flavonoides ($127,257 \pm 5.887 \mu\text{g ER/mg d'extrait}$) et en tanins (estimation qualitative) par rapport aux autres extraits. Le potentiel anti-radicalaire des extrais a été déterminé par la méthode de réduction du radical libre DPPH, les résultats montrent que ces extraits possèdent des activités antioxydant différentes dont la plus importante est notée dans l'extrait ACET ($21.48 \pm 0.47 \mu\text{g/ml}$). Les résultats de l'activité antimicrobienne montrent que l'extrait Hex exerce une activité antimicrobienne sur *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Pour le pouvoir antifongique, les extraits testés n'ont aucune activité inhibitrice vis-à-vis de *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*.

Mots clés : *Ziziphus lotus*, polyphénols totaux, activités antioxydant, activité antimicrobienne, pouvoir antifongique.

Abstract

Medicinal plants are an inexhaustible source of bioactive natural substances, which have applications in the pharmaceutical and biomedical fields. *Ziziphus lotus* is a traditionally herbaceous medicinal plant. This study aims to evaluate the richness of the fruits of this plant in total polyphenols and flavonoids. The antioxidant effect and antimicrobial activity (antifungal and antibacterial) of the different extracts prepared from the *Ziziphus lotus* fruit were also examined. Fractional extraction after maceration for 24 h using solvents of increasing polarity allowed the calculation of yields which were 0.75%; 5.70% and 0.40% for hexane, dichloromethane and ethyl acetate respectively. The composition of these extracts in polyphenols, flavonoids and tannins was evaluated using the Folin-Ciocalteu, AlCl₃, Vanillin methods respectively. The results show that the ethyl acetate extract gives the highest rates of total polyphenols (281.33±1.5 µg GAE/mg extract), flavonoids (127.257±5.887 µg RE/mg extract) and tannins (qualitative estimation) compared to the other extracts. The anti-radical potential of the extracts was determined by the DPPH free radical reduction method, the results show that these extracts possess different antioxidant activities, the most important of which is noted in extract ACET (21.48±0.47µg/ml). The results of the antimicrobial activity show that the Hex extract exerts antimicrobial activity on *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. For the antifungal power, the tested extracts have no inhibitory activity against *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*.

Keywords: *Ziziphus lotus*, total polyphenols, antioxidant activity, antimicrobial activity, antifungal power.

الملخص

النباتات الطبية مصدر لا ينضب للمواد الطبيعية النشطة بيولوجيا، والتي لها تطبيقات في المجالات الدوائية والطبية الحيوية. *Ziziphus lotus* هو نبات طبي تقليدي عشبي يهدف هذا العمل إلى تقييم ثراء ثمار هذا النبات البوليفينولات الكلية والفلافونويدات. كما تم فحص التأثير المضاد للأكسدة و النشاط المضاد للميكروبات (المضاد للفطريات و المضاد للبكتيريا) للمستخلصات المختلفة المعدة من ثمار *Ziziphus lotus* سمحت عملية الاستخلاص الجزئي بعد النقع لمدة 24 ساعة باستخدام مذيبات ذات قطبية متزايدة بحساب العائدات التي كانت 0.75%؛ 5.70% و 0.40% للهكسان Hexane، ثنائي كلورو الميثان Dichlorométhane و أسيتات الإيثيل Acétate d'éthyle على التوالي. يتم تقييم تركيبة هذه المستخلصات من البوليفينول والفلافونويدات والتانين باستخدام طرق Folin-ciocalteu، $AlCl_3$ ، Vanilline على التوالي. أظهرت النتائج ان مستخلص أسيتات الإيثيل يعطي أعلى معدلات البوليفينولات الكلية (281.33 ± 1.5 ميكروغرام مكافئ الغاليك / مغ مستخلص)، الفلافونويدات (127.257 ± 5.887 ميكروغرام مكافئ روتين / مغ مستخلص) والتانين (تقدير نوعي) مقارنة بالمستخلصات الأخرى. تم تحديد إمكانية مكافحة الجذور الحرة للمستخلصات باستخدام طريقة اختزال الجذور الحرة DPPH وأظهرت النتائج أن هذه المستخلصات تمتلك أنشطة مضادة للأكسدة مختلفة، وأهمها لوحظ في المستخلص أسيتات الإيثيل (0.47 ميكروغرام / مل ± 21.48). أظهرت نتائج النشاط المضاد للميكروبات أن مستخلص الهكسان يمارس نشاطاً مضاداً للميكروبات على *Bacillus Subtilis* و *Staphylococcus aureus*. بالنسبة للقدرة المضادة للفطريات، فإن المستخلصات التي تم اختبارها لا تملك أي نشاط مثبط ضد

Aspergillus Fumigatus، *Candida albicans*، *Aspergillus niger*، *Penicillium sp*.

الكلمات المفتاحية: *Ziziphus lotus*، البوليفينولات الكلية، النشاط ضد الاكسدة، النشاط ضد الميكروبات، القوة المضادة للفطريات.

Liste des figures

Figure 01 : Arbre de <i>Zizyphus lotus</i>	4
Figure 02 : Fruits de <i>Zizyphus lotus</i>	5
Figure 03 : Fruit compartments of <i>Z.lotus</i>	5
Figure 04 : Les Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i>	6
Figure 05 : Fleurs de <i>Zizyphus lotus L</i>	6
Figure 06 : Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde	8
Figure 07 : Aire de répartition du <i>Zizyphus lotus</i> en Algérie	9
Figure 08 : Classification des polyphénols	14
Figure 09 : Classification des tanins et leur structure	19
Figure 10 : (a) les fruits avant broyage ;(b) les fruits après broyage	28
Figure 11 : Agitation de l'échantillon	29
Figure 12 : filtration de l'échantillon	29
Figure 13 : Evaporation des extraits du <i>Zizyphus lotus</i>	31
Figure 14 : Les étapes des tests antimicrobiennes	35
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	38
Figure 16 : Représentation de dosage des polyphénols	39
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la Rutine	39
Figure 18 : Représentation de dosage des flavonoides	40
Figure 19 : Résultat de test des tanins condensés des différents extraits (Hex, DCM, ACET) des fruits du <i>Zizyphus lotus</i>	42
Figure 20 : La présence d'une zone d'inhibition en présence de l'extrait (Hex) sur les deux cultures <i>Bacillus subtilis</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b)	44
Figure 21 : L'absence de zones d'inhibition en présence des extraits (Hex, DCM, ACET, BR) sur <i>Escherichia coli</i> (c), <i>Klebsiella pneumonia</i> (d), <i>Salmonella typhimurium</i> (e).....	45

Liste des figures

Figure 22 : Absence de zones d'inhibition des extraits (Hex, DCM, ACET, BR) vis-à-vis de *Penicillium sp* (a), *Aspergillus niger* (b), *Candida albicans* (c), *Aspergillus fumigatus*(d).....47

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Dénominations internationales de <i>Ziziphus lotus</i>	7
Tableau 02 : Classification botanique de <i>Ziziphus lotus</i>	7
Tableau 03 : Principales classes des flavonoïdes et leurs structures	15
Tableau 04 : Pourcentage de la composition primaire des <i>Ziziphus lotus</i>	23
Tableau 05 : Composition en métabolites secondaires des différents organes du <i>Zizyphus lotus</i>	23
Tableau 06 : tableau descriptif de l'extraction fractionnée	30
Tableau 07 : Couleur et rendement des différents extraits du fruit <i>Ziziphus lotus</i>	37
Tableau 08 : teneur en polyphénols et flavonoïdes dans les extraits de la plante	41
Tableau 09 : Activité antioxydante des extraits de <i>Ziziphus lotus</i> et acide ascorbique.....	43
Tableau 10 : Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne par différents extraits du <i>Ziziphus lotus</i>	46

Les Abréviations

Hex : Hexane

DCM : Dichlorométhane

ACET : Acétate d'éthyle

BR : Brut

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

DMSO : Diméthylsulfoxyde

MeOH : Méthanol

AqE : Aqueux

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice 50 %

HCl : Chlorure d'hydrogène

EAG : Equivalent en acide gallique

ER : Equivalent de Rutine

MeOH-H₂O : Méthanol-1 'eau

Ascor. Ac^b: Acide ascorbique

Introduction

La demande croissante des consommateurs pour les aliments sûrs et de haute qualité a incité les chercheurs à développer de nouveaux ingrédients qui peuvent être inclus dans les aliments et produits nutraceutiques. Pour cette raison, les recherches actuelles se concentrent sur l'étude de sources naturelles telles que les fruits sauvages comestibles. Ces fruits sont une source de composants bioactifs, tels que les vitamines, les glucides, les caroténoïdes, les alcaloïdes, flavonoïdes, phénols, saponines, stéroïdes, triterpénoïdes et tanins (**Abcha et al., 2021**).

En plus du fait que *Z. lotus* offre un délicieux fruit (jujube) qui était consommé frais, séché et transformé comme aliment par les populations locales en quantités substantielles (**Abdoul-Azize, 2016**). Cette plante a été utilisée en médecine traditionnelle, elle est utilisée pour traiter les maladies du foie, l'insomnie et l'anxiété, les troubles digestifs et urinaires, l'obésité, le diabète, infections de la peau, fièvre et diarrhée (**Memarpoor-Yazdi, 2013**).

Plusieurs travaux scientifiques ont été réalisés sur la présence de molécules biologiquement actives chez *Z. lotus* (**Abdoul-Azize, 2016**). En effet, les fruits de cette plante sont largement utilisés dans l'alimentation humaine, favorisant la santé par la prévention des maladies en raison de leurs valeurs nutraceutiques et pharmaceutiques élevées (**Abcha et al., 2021**).

Cette plante possède des propriétés médicinales (antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, immunostimulante, anti-diabétique, hypoglycémique, sédatif et hypnotique, analgésique et les activités d'hémagglutination (**Memarpoor-Yazdi, 2013**)) d'où l'intérêt que nous donnons à cette étude pour arriver aux objectifs tracés et qui se résume dans l'évaluation des propriétés phytochimiques, l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne des fruits de *Zizyphus lotus*. Pour cette raison, nous avons suivi les étapes suivantes :

- Préparation de l'échantillon
- L'extraction fractionnée de l'échantillon
- Analyse qualitative et quantitative des extraits obtenus en polyphénols, flavonoïdes et tanins
- Etude de l'activité antioxydante des différents extraits du fruit du *Zizyphus lotus*, en utilisant la méthode de DPPH.
- Etude de l'activité antimicrobienne des différents extraits du fruit du *Zizyphus lotus* sur les bactéries et champignons.

Chapitre 1 :
Généralités sur Ziziphus
lotus

1. Description botanique

Le *Ziziphus lotus* L. (*Z. lotus*) est un arbuste fruitier épineux et très ramifié de la famille des Rhamnacées. Il pousse en touffes, ayant un diamètre de quelques mètres et peut aller jusqu'à deux mètres de haut (**Bencheikh et al., 2023**). Les rameaux sont recourbés vers le bas, flexueux, blanc grisâtre à épines par paires droites ou recourbées (**Ghedira, 2013**) (**figure 01**).



Figure 01 : Arbre de *Zizyphus lotus*.

Les fruits sont des drupes sphérique, d'abord, verte, puis jaune, et enfin rouge foncé à maturité (**Figure 02**). Leurs noyaux osseux biloculaires, ronds et petits sont recouverts d'une pulpe demi-charnue et riche en sucre. (**Figure 03**) (**Ghedira, 2013**).



Figure 02 : Fruits de *Zizyphus lotus* L.

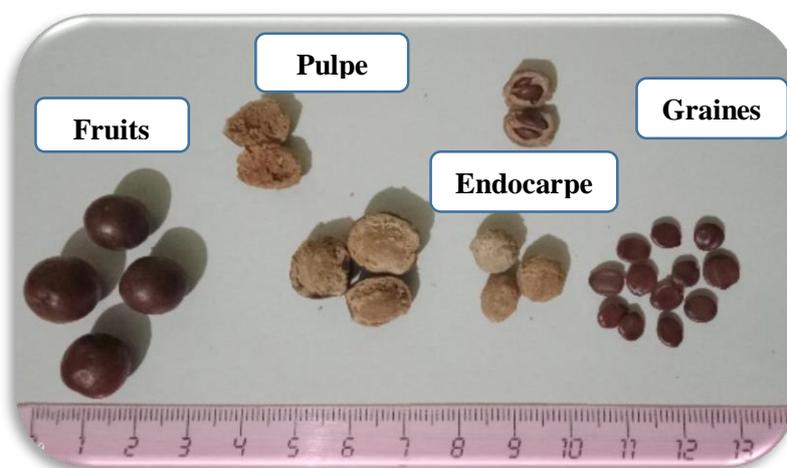


Figure 03: Fruit compartments of *Z.lotus*.

Les feuilles sont petites, crénelées, obtuses, à trois nervures, glabres, alternes, faiblement rigides, de 9 à 13 mm de long et de 7 à 9 mm de large, à pétiole court (**Figure 04**) (Ghedira, 2013).



Figure 04: Les Feuilles de *Zizyphus lotus*.

Les fleurs de *Z. lotus* sont petites, axillaires, bisexuées, pentamères et regroupées dans une inflorescence cymeuse, avec des sépales ouverts dans l'étoile, de petits pétales et un ovaire supérieur, fleurissant en juin-juillet (**Figure 05**) (**Bencheikh et al., 2023**).



Figure 05 : Fleurs de *Zizyphus lotus* L (Saadoudi, 2019).

2. Nomenclature

Le mot *Zizyphus* provient de zizouf, nom arabe de *Zizyphus lotus* Lam dérivé de l'appellation arabe du jujubier de Barbarie (**Munier, 1973**), connue aussi sous le nom de « Sedra » et ses fruits « Nbeg ». Il se trouve dans la région nord-africaine (**Bencheikh et al., 2023**). D'autres synonymes sont aussi rapportés pour cette espèce (cités dans la littérature

comme : *Zizyphus lotus* Lam, *Zizyphus lotus* Aitch, *Zizyphus lotus* Blanco, *Zizyphus rotundifolia*, *Zizyphus lotoidea* St. Lag, *Rhamnus lotus* L) (Ghedira, 2013). Le tableau 01 regroupe les dénominations internationales de *Ziziphus lotus* (Ghedira, 2013).

Tableau 01 : Dénominations internationales de *Ziziphus lotus*.

Français	jujubier de Berbérie, Jujubier sauvage, jujubier des Lotophages, lotus des anciens
Anglais	African jujube, Lote fruit, Lotus tree, lotus jujube, wild jujube
Allemand	Wilde Jujube
Portugais	Acufeifa-menor
Espagnol	Espina de Cristo, Azufaifo africano, Arto, Arto blanco, Azufaifo ibérico
Arabe	Zizouf زيزوف, sedra سدرة, sidr سدر, sidr barri سدر بري
Berbère (Maroc)	âmezmem

3. Classification

Tableau 02 : Classification botanique de *Ziziphus lotus* (Ghedira, 2013).

Règne	Végétal
Embranchement	Magnoliophyta (= Phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (= Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (=Dicotylédones)
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Tribu	Zizyphae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf

4. Répartition géographique

4.1. Répartition dans le monde

Le *Z. Lotus* se trouve principalement dans les régions arides et semi-arides, avec une répartition importante en Chine, en Iran, en Afrique (largement répandue dans la région méditerranéenne, y compris (Maroc, Tunisie, Libye et Algérie), en Corée du Sud et en Europe (notamment à Chypre, en Espagne, en Grèce et en Sicile) (**Abdoul-Azize, 2016**) (**Figure 06**).

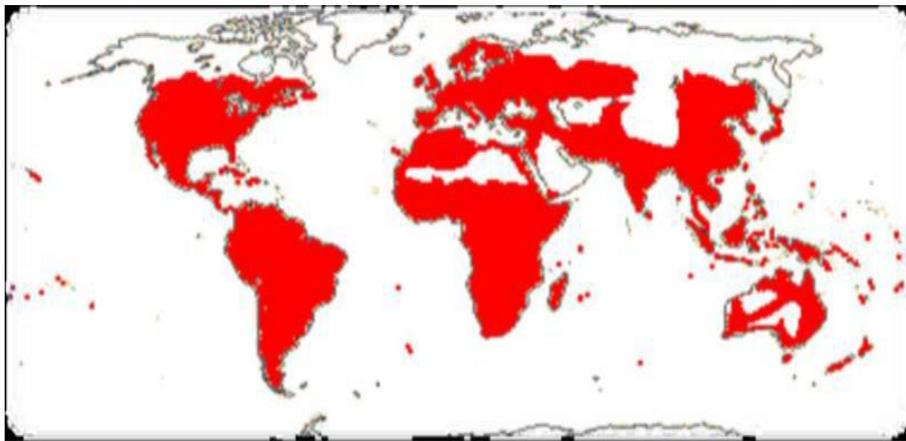


Figure 06 : Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde

(Dupont et Guignard, 2012).

4.2. Répartition en Algérie

Cet arbre est particulièrement trouvé dans les dunes de sable de la région saharienne algérienne, ainsi que dans les zones arides et semi-arides où il occupe différents types de sols (**Moulessehoul et al., 2023**). Il est très répandu dans les régions de Ain Ouessara, Maessad (willaya de Djelfa) (**Benammar et al., 2010**) et dans la région de Relizane (Ouest de l'Algérie) (**Moulessehoul et al., 2023**) (**Figure 07**).

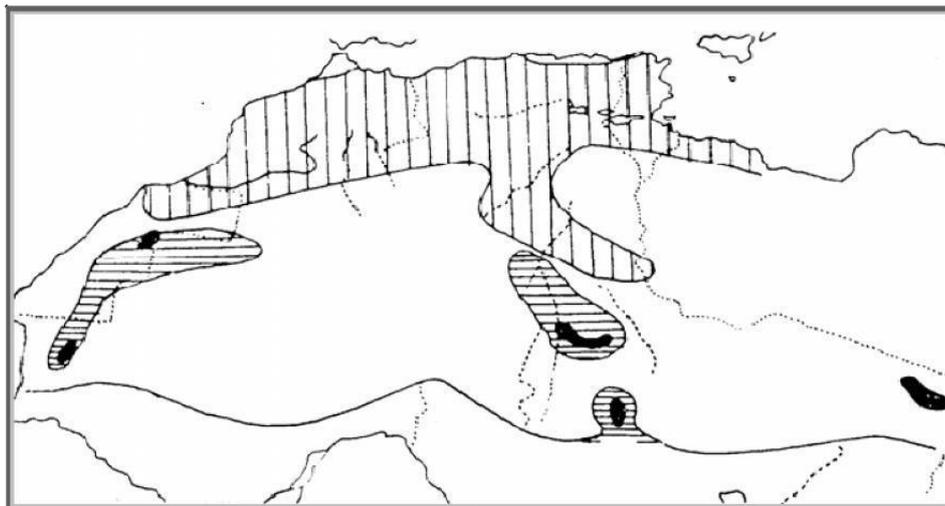


Figure 07 : Aire de répartition du *Ziziphus lotus* en Algérie (Quezel et Santa, 1962).

5. Caractéristiques écologiques

Z. lotus peut s'adapter à un large éventail de circonstances climatiques. En raison de sa floraison tardive, il résiste aussi bien aux gelées hivernales ($-15\text{ }^{\circ}\text{C}$), qu'aux gelées printanières. C'est une plante solaire réservée aux climats chauds et secs et supporte bien la sécheresse et la chaleur (jusqu'à $45\text{ }^{\circ}\text{C}$). Différents types de sols sont tolérés par *Z. lotus*. Mais elle préfère les sols profonds et sableux, neutres à légèrement alcalins. Cette plante peut être rencontrée dans les zones désertiques à très faibles précipitations et pousse dans les zones rocheuses, les falaises et les contreforts. Il se reproduit végétativement avec une faible propagation par plantule, son optimum thermique est de $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Moulessehouli *et al.*, 2023).

Le jujubier est donc une espèce fruitière à recommander dans les régions arides ou sub-arides en raison de la sévérité des conditions écologiques et des ressources en eau très limitées, dans les zones du Sahara notamment.

6. Utilisations de *Z. lotus*

6.1. Utilisation alimentaire

Le jujube a longtemps fait partie de l'alimentation de certaines populations, à savoir, les habitants de la Libye de l'antiquité (Golfe de Gabès), dont la nourriture de base était constituée par la «lotos», le fruit du jujubier. Ces populations, en faisaient du pain, du vin et une liqueur (Munier, 1973).

Aujourd'hui, le jujube est largement consommé par les populations d'Afrique du nord, du Moyen Orient et en Chine (**Munier, 1973**). En Tunisie par exemple, le Nbeg est apprécié comme friandise plus que comme aliment (**Ghedira, 2013**). Aussi, les fruits sont séchés et réduits en une farine pour faire des galettes de saveur très agréable (**Ghedira, 2013**). Les jujubes sont également utilisés en confiserie, en pâtisserie, après avoir été transformés en pâte ou en farine après séchage. En Inde et au Pakistan, les jujubes sont utilisés dans la confection de différents produits condimentaires : Chutney, pickles (**Munier, 1973**).

6.2. Utilisation médicinale

Zizyphus lotus L a été principalement étudiée en Inde et au Pakistan, en raison de la grande extension de la culture de cet arbre fruitier dans ces pays (**Munier, 1973**).

En Algérie *Zizyphus lotus L* est utilisé en médecine traditionnelle pour ses activités antidiabétiques, sédatives et hypoglycémiques (**Dahlia et al., 2020 ; Benammar et al., 2010**). Les propriétés médicinales dépendent de la partie de la plante utilisée et de l'extrait utilisé (éthanolique, butanolique etc.) (**Benammar et al., 2010**).

Les feuilles et les fruits réduits en poudre et mélangés avec de l'eau ou du lait sont utilisés au Sahara central comme emplâtres sur les furoncles (**Ghedira, 2013**).

L'écorce de racine est connue pour son activité antidiabétique (**Benammar et al., 2010**). Et la racine écrasée et exprimée laisse couler un jus qui serait efficace dans les cas de leucomes oculaires (**Ghedira, 2013**).

Zizyphus lotus L a été utilisée en médecine traditionnelle pour ses effets anti-inflammatoires, antifongiques, antibactériens, anti-ulcérogènes, antipyrétiques, antiviraux et effets immunomodulateurs (**Chentouf, 2018**), ainsi que dans le traitement de la diarrhée et la fièvre (**Dahlia et al., 2020**). Elle peut aussi être utilisée dans le traitement des affections urogénitales, rhumatologiques, neurologiques, thyroïdiennes et typhoïdes (**Dahlia et al., 2020**).

6.3. Autres utilisations

Les feuilles sont largement employées comme une réserve fourragère d'appoint pour les chameaux et les chèvres ou utilisées pour laver les cheveux en Arabie Orientale (**Saadoudi, 2019**). Les rameaux secs et épineux du jujubier sont utilisés pour former des clôtures défensives (**Adzu et al., 2003**). En Afrique, le bois du jujubier est utilisé pour la sculpture et la menuiserie (**Epfrain et al., 1998**).

Chapitre 2 :
Les métabolites secondaires

1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires végétaux sont des composés produits par les plantes qui ne sont pas essentiels à leur croissance, leur développement ou leur reproduction, mais qui ont souvent des rôles importants dans la défense contre les prédateurs, les interactions avec d'autres organismes et d'autres processus écologiques (**Mansour, 2009**).

Donc les métabolites secondaires, bien que de petite taille (quelques centaines de daltons), présentent une structure complexe et originale qui leur confère une grande stabilité (**Le Pogam et al., 2015**). Des milliers de métabolites (au moins 30 000 structures caractéristiques) identifiés et classés en fonction de leurs affiliations chimiques (**Judd et al., 2002**). Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes, mais leur répartition varie selon leurs fonctions et diffère d'une plante à l'autre (**Bruneton, 1999 ; Zenk et al., 2007**).

2. Les rôles des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ont fait l'objet de recherches approfondies, présentent des intérêts divers et sont utilisés dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (**Epifano et al., 2007**). Ils sont largement employés en thérapie pour protéger les vaisseaux sanguins, réduire l'inflammation, agir comme antioxydants (**Epifano et al., 2007**).

Ils ne sont pas directement impliqués dans le développement des plantes mais interviennent dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques (**Leurent, 2012**).

Ils contribuent donc très efficacement à la résistance des plantes à divers stress. Antiherbivore (par ex. menthe), inhibition de l'attaque d'agents pathogènes par des bactéries et des champignons, prédation sur les insectes, protection contre la sécheresse et les rayons UV. Cependant, ils peuvent être antinutritifs (**Sandrin, 2004**).

D'un point de vue applicatif, ces molécules constituent la base des principes actifs des plantes médicinales (**Mansour, 2009**).

3. Les familles des métabolites secondaires

On peut identifier trois grandes familles des métabolites secondaires : les Terpènes, les Alcaloïdes et les composés phénoliques. (**Benkiki, 2006**).

3.1. Les terpènes

Il s'agit d'hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (**Belhachat, 2019**), ils constituent un vaste groupe de métabolites naturels distincts, dont beaucoup ont été découverts dans les plantes. Les terpènes découverts et isolés de plantes ont été utilisés largement dans les aliments, les cosmétiques, les produits pharmaceutiques, et dans diverses applications biotechnologiques (**Jiang et al., 2016**).

3.2. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés basiques contenant de l'azote d'origine naturelle où l'atome d'azote fait partie d'un cycle chimique complexe, ils ont une activité pharmacologique notable. De plus, les alcaloïdes ont la particularité de réagir avec des sels de métaux lourds, facilitant ainsi leur identification à l'aide de réactifs tels que Mayer, Dragendorff (**krief, 2003**).

3.3. Les Composés phénoliques

3.3.1. Définition des polyphénols

Les polyphénols constituent l'un des groupes de substances les plus courants et les plus répandus dans les plantes à fleurs, présents dans tous les organes végétatifs, ainsi que dans les fleurs et les fruits (**Ferrazzano et al., 2011**). D'après, **Ferrazzano et al., 2011**, plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues. Ils proviennent bio génétiquement de deux voies de synthèse principales : la voie du shikimate et celle de l'acétate (**Balasundram et al., 2006 ; Lugasi et al., 2003**).

Ces métabolites secondaires sont impliqués dans la défense chimique des plantes contre les prédateurs et dans les interférences plante-plante (**Ferrazzano et al., 2011**). Ils jouent également un rôle important dans la croissance et la reproduction et dans la protection contre les agents pathogènes (**Balasundram et al., 2006**). Les composés phénoliques présentent un large éventail de propriétés physiologiques, telles que des effets anti-allergéniques, anti-arthérogènes, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antioxydants, antithrombotiques, cardioprotecteurs et vasodilatateurs (**Balasundram et al., 2006**). En effet, de nouvelles découvertes suggèrent divers mécanismes d'action potentiels par lesquels les polyphénols pourraient prévenir les maladie, tels que l'inhibition des enzymes de réplication bactérienne, l'induction de l'apoptose dans les cellules tumorales, la stimulation des

monocytes/macrophages pour produire des cytokines et la stimulation de la myéloperoxydase (Ferrazzano *et al.*, 2011).

3.3.2. Classification des polyphénols

Leur classification se fait selon le nombre de cycles phénoliques et les éléments structurels qui lient les cycles les uns aux autres, ces composés sont regroupés et classés en phénols simples, acides phénoliques, flavonoïdes, xanthones, stilbènes et lignanes (Vuolo *et al.*, 2019) (Figure 08).

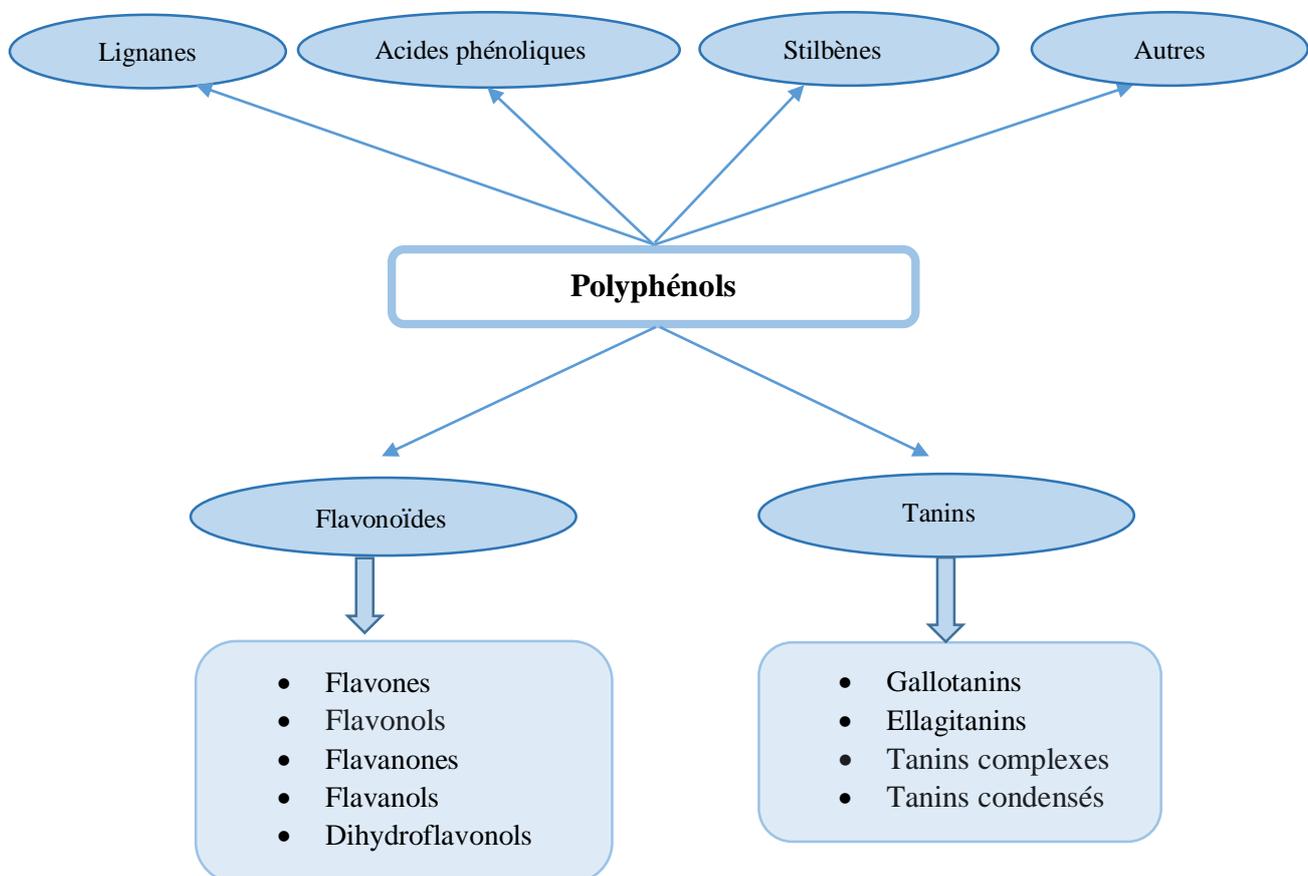


Figure 08: Classification des polyphénols (Ferrazzano *et al.*, 2011).

3.3.3. Les principales classes de polyphénols

A / Les flavonoïdes

Définition et localisation des flavonoïdes

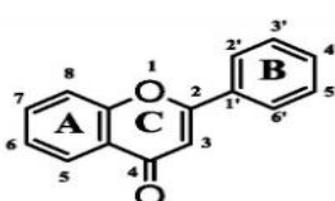
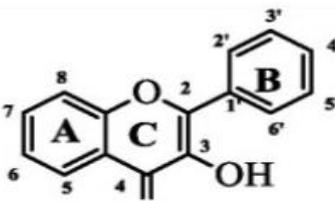
Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques benzo- γ -pyrone qui appartiennent à une classe de pigments végétaux hydrosolubles (Scheidt *et al.*, 2004), ils sont produits dans les plantes comme métabolites secondaires. Dans leur structure chimique, les flavonoïdes ont trois anneaux (C6-C3-C6) comme squelette de base (Shen *et al.*, 2022). Plus de 6 000 molécules de flavonoïdes différentes ont été identifiées. Les flavonoïdes sont présents dans les légumes, les fruits et les boissons telles que la bière, le vin, le thé et les boissons aux fruits (Ghedria, 2005 ; Scheidt *et al.*, 2004).

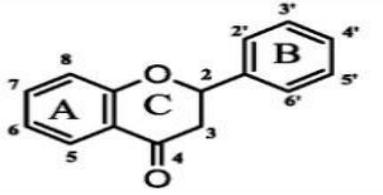
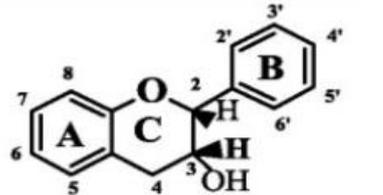
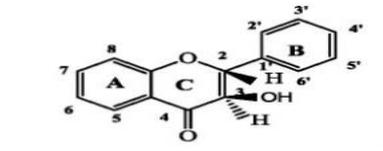
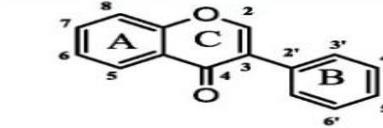
Chez les plantes, les flavonoïdes se trouvent dans les fleurs, les feuilles et les graines, et s'accumulent généralement dans les vacuoles des cellules végétales sous forme de glycosides (Scheidt *et al.*, 2004).

Classification des flavonoïdes

Elle se fait sur la base des différences structurelles, les flavonoïdes sont généralement classés en sept sous-classes : flavonols, flavones, isoflavones, flavanones, flavanols et dihydroflavonols (Ghedria, 2005 ; Scheidt *et al.*, 2004) (Tableau 04).

Tableau 03 : Principales classes des flavonoïdes et leurs structures (Ghedria, 2005).

Classes	Structures	Exemples
Flavones		Apigénine Lutéoline
Flavonols		Quercétine Kaempférol Myricétine

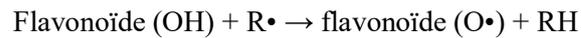
Flavanones		Naringénine
Flavanols		Catéchine
Dihydroflavonols		Dihydrokaempférol Dihydroquercétine
Isoflavone		Genistein Daidzein

Les propriétés des flavonoïdes

Il a été démontré que ces molécules présentent une activité antibactérienne, anti-inflammatoire, antiallergique, antimutagène, antivirale, antinéoplasique, antithrombotique, modulatrice de la biosynthèse du cholestérol et vasodilatatrice. En les testant sur des animaux, les flavonoïdes ont révélé une activité anticancéreuse et sont donc suggérés pour la prévention et le traitement des dommages oxydatifs des particules lipoprotéiques et des membranes cellulaires (Scheidt *et al.*, 2004).

- Propriétés antioxydante

L'activité antioxydante est la propriété la mieux décrite, c'est celle de la capacité des molécules à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante :



Les flavonoïdes stabilisent les radicaux libres par le biais de leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont aussi des chélateurs des ions métalliques largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles (OH). Les flavonoïdes sont aussi capables d'inhiber la carcinogénèse. Ils inhibent l'angiogénèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Ghedira, 2005**).

- **Propriétés antibactérienne et antivirale**

Dans certains cas, les flavonoïdes (en particulier les chalcones) ont montré des activités anti bactériennes jusqu'à six fois plus fortes que les médicaments standards sur le marché. Certains dérivés synthétiques des flavonoïdes présentent aussi des activités antibactériennes remarquables avec une activité 20 à 80 fois plus puissante que le médicament standard contre les bactéries Gram-négatifs et Gram-positifs multirésistants (dont *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) (**Farhadi et al., 2018**).

Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux de certains virus. En effet, ils affectent la réplication intracellulaire des virus respiratoire syncytial (VRS), de l'herpès simplex virus (HSV) et des adénovirus (**Ghedira, 2005**).

- **Propriétés antiallergique**

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Leur action se fait par l'inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles comme l'AMPc phosphodiesterase et la Ca⁺⁺ ATPase. En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (**Ghedira, 2005**).

- **Propriétés anti-inflammatoire**

Les travaux antérieurs réalisés in vitro ont montré que plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. La myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement (**Ghedira, 2005**).

- Propriétés inhibitrices d'enzymes

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs à l'égard des enzymes de l'inflammation tel que le cyclo-oxygénase et la lipoxigénase ; ils inhibent aussi l'aldose réductase et la phospholipase A2 (**Ghedira, 2005**).

- Propriétés anti-ulcérogènes

Les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. L'hypolaetine-8- glucose, flavonoïde présent dans diverses espèces du genre *Sideritis*, présente une activité anti-ulcérogène significative (**Ghedira, 2005**).

B/ Les tanins

Définition et localisation des Tanins

Les tanins sont des composés hautement hydroxylés qui comprennent une grande diversité de structures chimiques. Ces composés phénoliques des plantes supérieures sont des métabolites secondaires de poids moléculaire allant jusqu'à 20 000 Da, et ils partagent la capacité à former des complexes avec les glucides et les protéines. Ils se trouvent soit dissous dans la sève vacuolaire de certaines cellules parenchymatiques, soit dans des cellules comme les idioblastes. Ils sont largement répandus dans les aliments d'origine végétale, notamment dans les graines de légumineuses, les céréales, les fruits, les noix et les légumes, ainsi que dans diverses boissons comme le vin, le thé, le cacao, les noix et le cidre (**Montes-Ávila et al., 2018 ; Hassanpour et al., 2011**).

Classification des Tanins

Avant, elle se basée sur leur résistance ou non, à l'hydrolyse en présence de l'eau chaude ou des enzymes. On distingue les tanins hydrolysable et les non hydrolysable/condensé.

Les tanins hydrolysables englobent les polyesters de l'acide gallique et de l'acide hexahydroxydiphénique (respectivement gallotanins et ellagitanins), alors que les tanins condensés comprennent les oligomères et les polymères composés de noyaux favan-3-ol (proanthocyanidines). Plus récemment, les tanins sont classés selon leurs caractéristiques structurales, en quatre grands groupes (**Figure 09**) : Gallotanins, -Ellagitanins, Tanins complexes et Tanins condensés (**Montes-Ávila et al., 2018 ; Sieniawska et Baj, 2017**).

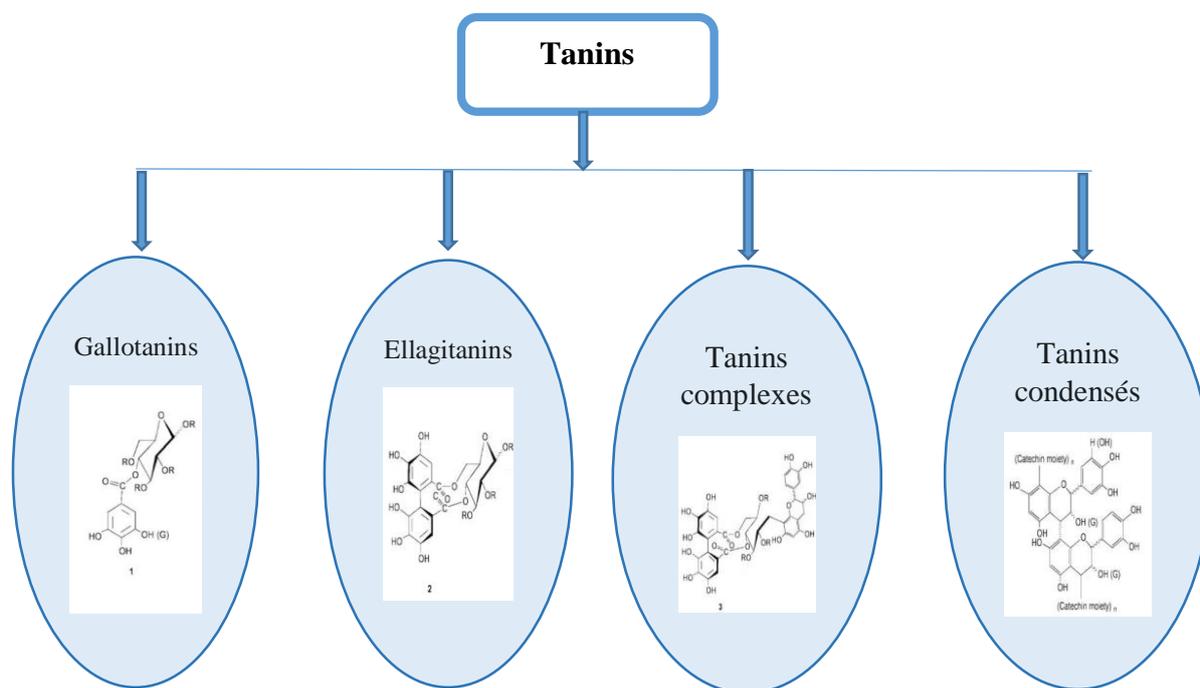


Figure 09: Classification des tanins et leur structure (Khanbabaee et Van Ree, 2001).

Gallotanins : Les gallotanins sont les tanins hydrolysables les plus simples, contenant un résidu polyphénolique et un résidu polyol. Même si une grande variété de ces résidus de polyol sont possibles, la plupart des gallotanins isolés provenant de plantes contiennent un résidu polyol dérivé du D-glucose (Montes-Ávila *et al.*, 2018 ; Khanbabaee et Van Ree, 2001).

Ellagitanins : Les ellagitanins constituent la classe la plus connue de tanins. Ils sont formés à partir des gallotanins par l'action oxydative. Couplage d'au moins deux unités galloyle, donnant une unité HHDP axialement chirale (Montes-Ávila *et al.*, 2018 ; Khanbabaee et Van Ree, 2001).

Tanins complexes : Les structures des tanins complexes sont construites à partir d'une unité gallotannin ou une unité ellagitannin, et une unité catéchine. Un exemple de cette classe de substances est l'acutisimine A (Sieniawska et Baj, 2017 ; Khanbabaee et Van Ree, 2001).

Tanins condensés : Ce sont des polymères de flavan-3-ols (appelés aussi catéchines) et de flavan-3,4-diols (appelés leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux. Les tannins condensés sont des polymères de fort poids moléculaire, les plus couramment décrits faisant

5 000 Da, mais on en a découverts de plus de 30 000 Da. De structure plus complexe, ils sont de loin les tannins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, des dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes. On les appelle également proanthocyanidines, car les tannins condensés produisent des anthocyanidines quand on les chauffe dans l'acide (**Sieniawska et Baj, 2017 ; Peronny, 2005 ; Khanbabaee et Van Ree, 2001**).

Les propriétés des Tanins

- antibactérienne et antivirale

Les tanins sont largement reconnus pour leurs effets antimicrobiens. En 1986, Kakiuchi et ses collaborateurs ont examiné plusieurs médicaments traditionnels chinois à base de tanin qui ont montré une activité antibactérienne contre *Streptococcus mutans* (**De Bruyne et al., 1999**).

Les tanins condensés galloylés ont les plus puissantes activités quant à leurs propriétés antibactériennes (**De Bruyne et al., 1999**).

L'activité antivirale est due à la liaison des molécules de tanin à l'enveloppe protéique du virus ou à la membrane de la cellule hôte. L'adsorption du virus et par conséquent, sa pénétration sont ainsi arrêtées (**De Bruyne et al., 1999**). Dans certains cas, la liaison n'entraîne que des modifications mineures sur la surface virale, permettant toujours la pénétration, mais empêchant le dévoilement du virus (**De Bruyne et al., 1999**).

Les tanins seraient bactériostatiques ou bactéricide pour *Aeromonas sobria*, *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *Clostridium bolulinum*, *C. perfringens*, *Desulfomaculum nigrificans* (**Chung et al., 1998**).

Au contraire de l'acide gallique, l'acide tannique et le gallate de propyle, présentaient une inhibition de la croissance des bactéries d'origine alimentaire dont *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *K. pneumonia*, *Listeria monocytogenes* Scot A, *L. monocytogenes* IAI, *Proteus vulgaris*, *Pseud. fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *S. paratyphi*, *Shig flexneri*, *Staph aureus*, *Strept faecalis*, *Strept pyogenes* et *Yersinia enterocolitica*. Les agents pathogènes des poissons aquatiques tels que *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *Edwardsiella ictaluri*, *E. tarda*, *Escherichia coli* et *Pseud fluorescens* étaient inhibés par les tanins (**Chung et al., 1998**).

- **antifongique**

Diverses levures dont *Saccharomyces cerevisiae* et les champignons filamenteux tels qu'*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Chaetomium cupreum*, *Colletotrichum graminicola*, *Coniophora olivacea*, *Coriolus versicolor*, *Crinipellis pernicioso*, *Fomes annosus*, *Gloeophyllum trabeum*, *Merulius lacrymans*, *Penicillium*, *Poria monticola*, *Trametes hirsuta* et *Trichoderma viride* sont inhibés par les tanins de différentes préparations (**Chung et al., 1998**).

- **antioxydante**

Les tannins sont répandus dans de nombreux aliments d'origine végétale et présentent de grandes capacités anti-oxydantes grâce à leurs structures riches en noyaux phénolique (**Peronny, 2005**). Ils peuvent donc être d'importants antioxydants alimentaires. Le potentiel de tanins pour diminuer la digestibilité des nutriments doit être mis en balance avec leur potentiel à servir d'antioxydants biologiques (**Hagerman et al., 1998**).

Chapitre 3 :
Les propriétés
phytochimiques de la plante

1. Composition biochimique de *Ziziphus lotus*

1.1. Métabolites primaires

Le *Ziziphus lotus* contient différents métabolites primaires (**Tableau 03**).

Tableau 04 : Pourcentage de la composition en métabolites primaires du *Ziziphus lotus* :

Métabolite	Pourcentage(%)	Référence
Protéines	19,11%	(Chouaibi et al., 2003)
Lipides	32,92%	
Carbohydrates	40,87%	
Vitamine	A et C	(Abdoul-Azize, 2016)

1.2. Métabolites secondaires

Ziziphus lotus est riche en polyphénols, alcaloïdes cyclopeptidiques, et saponines (**Abdoul-Azize, 2016**) (**Tableau 04**).

Tableau 05 : Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Ziziphus lotus*.

Organe végétal	Composition chimique	Références
Fruits	-flavonoides	(Boussaid et al., 2018)
	-Tanins -Alcaloïdes -Saponines	(Borgi et al., 2007)
Ecorce des racines	-Flavonoides	(Borgi et al., 2007)
	-Tanins. -Alcaloïde cyclopeptidiques -Saponines	(Ghedira, 2013)
Feuilles	-Flavonoides	(Borgi et al., 2007)
	-Tanins -Alcaloïdes -Saponines de type:juboside B	(Ghedira, 2013)

2. Les activités biologiques de *Ziziphus lotus*

2.1. Activité antioxydant

Plusieurs études rapportent que les extraits de *Z. lotus* présentent des propriétés antioxydantes. En effet, cette plante renferme de nombreux composés antioxydants tels que les acides phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes et saponines. Des travaux antérieurs ont montré que ces composants préviennent le stress oxydatif en réduisant de façon intéressante les espèces réactives de l'oxygène (ROS). De nombreuses études réalisées *in vitro* ont démontré la capacité des différentes parties de *Z. lotus* à piéger les radicaux libres. *Z. lotus* possède le pouvoir antioxydant le plus élevé dans la fraction MeOH-H₂O (**El cadi et al., 2020**).

L'extrait méthanolique de *Zizyphus lotus* possède une activité antioxydante considérable, qui peut être utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour traiter les maladies causées par le stress oxydatif (**khouchalaa et Tijane, 2020**).

2.2. Activité antibactérienne et antifongique

Des études *in vitro* ont élucidé les effets des extraits de *Z. lotus* sur la croissance de plusieurs espèces de bactéries et de champignons. Ils ont démontré que les extraits éthérique et méthanolique de fruits de *Z. lotus* présentaient des effets bactéricides. Ces activités antimicrobiennes des fruits de *Z. lotus* semblent être provoquées par des composés phénoliques contenus dans cette partie de *Z. lotus*. Dans l'ensemble, ces rapports ont fourni la preuve que *Z. lotus* possède des effets antibactériens qui pourraient être considérés comme une source de biomolécules naturelles pour produire des bactéricides et des fongicides (**Benammar et al., 2010**). D'après **Naili et al. (2010)** les extraits méthanoliques de *Zizyphus lotus* ont montré de bons effets inhibiteurs vis-à-vis des bactéries Gram-positif et sans effets contre les espèces bactériennes Gram-négatif.

2.3. Activité antiinflammatoire et Immunomodulatrice

Les extraits aqueux et méthanoliques des écorces de racine de *Z lotus* ont montré un effet anti-inflammatoire significatif (**Borgi et al., 2007**). En outre, des recherches antérieures indiquent que des extraits de diverses parties de *Z. lotus* possèdent des propriétés immunosuppressives, l'extrait aqueux de pulpe, de graines, de feuilles, de racines et de tiges de *Z. lotus* présentaient un effet immunosuppresseur significatif, inhibant la prolifération des lymphocytes T (**Bencheikh et al., 2023**).

2.4. Activité analgésique

Chez la souris, il a été démontré que l'extrait aqueux d'écorces de racines possédait un effet analgésique significatif (**Borgi et al., 2007**).

De plus, d'autres études réalisées par **Borgi et al. (2007)** ont démontré que l'injection intrapéritonéale d'extraits aqueux, de méthanol, de chloroforme et d'acétate d'éthyle à des doses de 50, 100 et 200 mg/kg provoquait une diminution des contorsions provoquées par l'acide acétique chez la souris. Les mêmes auteurs ont affirmé que les effets analgésiques de l'extrait d'acétate d'éthyle étaient extrêmement efficaces par rapport aux autres extraits testés.

2.5. Activité antiulcérogène et gastroprotecteur

Dans de nombreuses études *in vivo*, les effets protecteurs des extraits aqueux de *Z. lotus* (écorce de racine, feuilles et fruits) administrés par voie orale chez le rat Wistar ont été observés dans le cas des lésions de plusieurs modèles induits par ulcérogénèse. Ces rapports suggèrent que les extraits de cette plante agissaient comme agent anti-ulcéreux en réduisant l'acidité et le suc gastriques sécrétion (**Benammar et al., 2010**).

Matériel et Méthodes

1. Matériel et méthodes

Le côté pratique de ce travail a été réalisé dans le laboratoire de biologie et environnement. Le matériel biologique nous a été fourni par notre encadreur. L'évaluation phytochimique, activité antioxydante et antimicrobienne (antifongique et antibactérienne) des fruits de *Ziziphus lotus* s'est faite sur une période de deux mois.

1.1. Matériel biologique

a/ Matériel végétal

Il s'agit des fruits de *Ziziphus lotus*, récoltés en 2023 dans la région d'El khroub dans la wilaya de Constantine.

b/ Matériel microbiologique

Le matériel microbiologique utilisé est représenté par cinq souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* et *Klebsiella pneumonia*) et quatre souche fongiques (*Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*).

1.2. Matériel et réactifs

A / Matériel

- Etuve (Electro thermostatique Oven)
- Rotavapeur
- Balance analytique de précision
- Agitateur magnétique
- Spectrophotomètres
- Vortex
- Bain marie

B / milieux de culture

- Gélose nutritive
- Gélose Mueller Hinton
- Gélose Sabouraud

C / Réactifs

- Ethanol
- Dichlorométhane
- Acétate d'éthyle
- Hexane
- Sulfate de sodium anhydre
- Folin ciocalteu
- DPPH
- DMSO
- HCl
- Vanilline
- AlCl_3
- Na_2CO_3
- Acétate de sodium

1.3. Extraction

Les fruits préalablement rincés à l'eau distillée et séché à l'abri du soleil sont broyés pour obtenir une poudre fine. Celle-ci a été conservée dans des bocaux en verre (**Figure 10**).

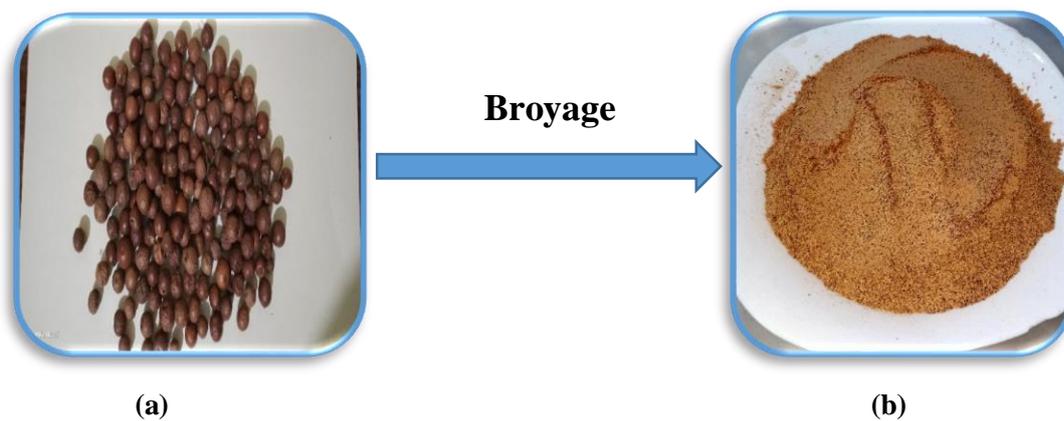


Figure 10 : (a) les fruits avant broyage ;(b) les fruits après broyage

L'extraction est effectuée par macération selon la méthode décrit par (**Khouchlaa et al., 2017**). 20g de poudre de l'échantillon végétal a été mélangé avec 200ml d'une solution

hydro-alcoolique éthanol : eau (80 : 20 , v/v). Dans un bécher recouvert du papier aluminium troué, le mélange subit une agitation pendant 24 heures à l'aide d'un agitateur magnétique (**figure 11**). Après les 24h, le mélange est filtré par du papier filtre (**figure 12**).

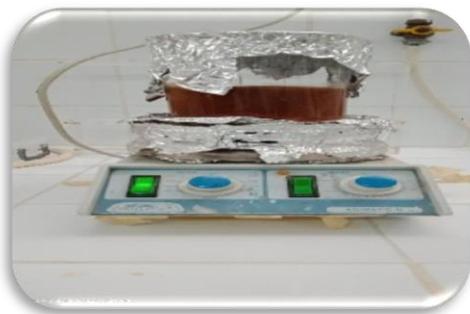


Figure 11 : Agitation de l'échantillon



Figure 12 : filtration de l'échantillon

Un fractionnement des différentes phases a été réalisé par l'usage de trois solvants à savoir : l'hexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle :

Nous avons d'abord, ajouter à 200 ml du filtrat le même volume d' hexane, après avoir agité quelques minutes et dégazé à chaque fois, le mélange a été placé dans une ampoule à décanter. Une fois les deux phases séparées (phase organique au-dessus de la phase aqueuse), la phase organique est récupérée dans un flacon et mise de côté pour être ultérieurement séché par le biais du rotavapeur. La phase aqueuse est mélangée de nouveau avec l' hexane pour récupérer d'avantage de molécules apolaires.

Ensuite, on procède à la récupération de la seconde fraction par l'addition de 200ml du dichlorométhane à la phase aqueuse issue de l'étape précédente en optant de la même manière que précédemment.

En dernier, nous avons ajouté le même volume d'acétate d'éthyle que le volume de la phase aqueuse issue de l'extraction par le dichlorométhane, en précédant toujours de la même manière que la première étape (**Tableau 05**).

Tableau 06 : tableau descriptif de l'extraction fractionnée.

Hexane		
Dichlorométhane		
Acétate d'éthyle		

Les différentes fractions récupérées ont été évaporée à l'aide d'un Rotavapeur à 35C° (**figure 13**) et les extraits séchés sont récupérés et utilisés dans les différents dosages et tests (polyphénol, flavonoïde, tanins, activité antioxydante et antimicrobienne). Le rendement est ensuite calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{extrait}}/M_{\text{échantillon}}) \times 100$$

R : est le rendement en %

M_{extrait} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg

$M_{\text{échantillon}}$: la masse sèche de l'échantillon végétal en mg

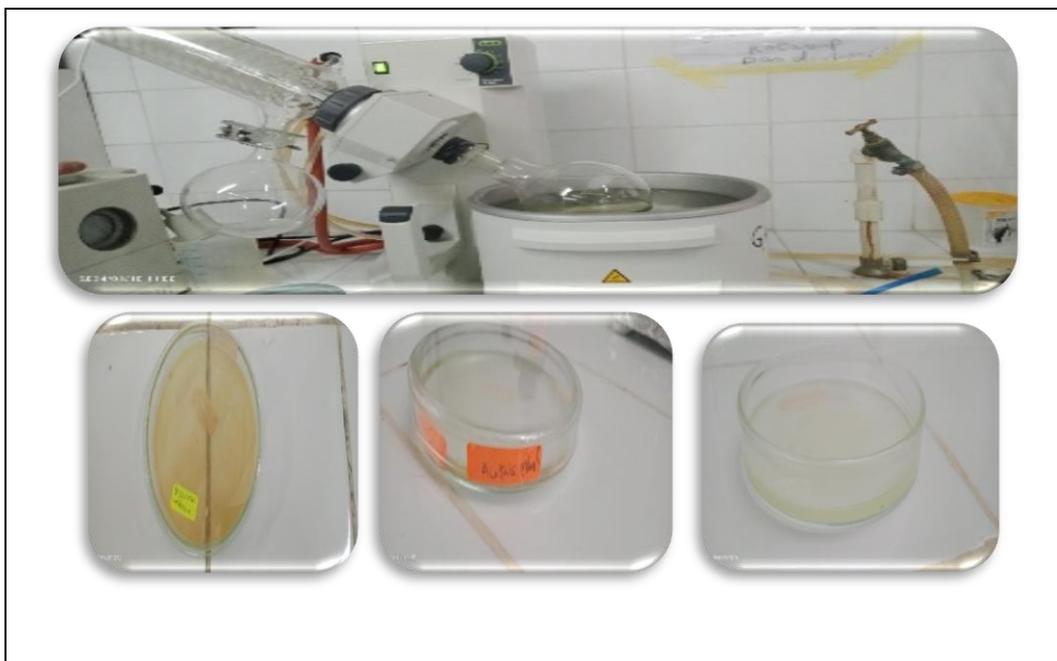


Figure 13 : Evaporation des extraits du *Ziziphus lotus*.

1.4. Analyse quantitative des extraits de *Ziziphus lotus*

1.4.1. Dosage des polyphénols

Principe de la méthode

Les polyphénols sont estimés en utilisant le réactif de folin ciocalteu selon la méthode de (Agbor *et al.*, 2014). Le réactif est constitué d'un mélange d'acides phosphotungstique (H3PW12O40) et phosphomolybdique (H3PMO12O40), il est réduit en oxydes bleus de tungstène (H8O23) et de molybdène (M08O23) lors de l'oxydation du phénol. Cette réaction se produit en conditions alcalines (en présence du carbonate de sodium), la coloration bleue est suivie à 760 nm (Georgé *et al.*, 2005).

Manipulation

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Zengin et al., 2011)** avec quelques modifications.

Dans des tubes en verre, 200µl de chaque extrait (extrait de dichlorométhane, extrait de acétate d'éthyle, extrait de hexane) sont ajoutés à 1.5ml d'eau distillée, ensuite on ajoute 100µl de réactif de folin ciocalteu et juste après 500µl de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7%, 7g dans 100ml l'eau distillée) pour rendre le milieu plus alcalin et pour catalyser la réaction d'oxydoréduction.

La mélange a été incubé 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, puis l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 760nm.

La teneur phénolique totale est déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (standard) à différentes concentrations (20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200 µg/ml) les extraits et le standard sont traités dans les mêmes conditions et les valeurs sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

1.4.2. Dosage des flavonoïdes

Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium **(Aryal et al., 2019)**, elle se base sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes **(Ali-Rachedi et al., 2018)**.

Manipulation

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Aryal et al. (2019)** avec quelques modifications. Dans un tube en verre, un volume de 1ml de chaque extrait (1mg/ml) a été déposé avec 200µl d'AlCl₃ (10%), puis a été mélangé avec 200µl d'Acétate de sodium et 5.6ml d'eau distillé. Le mélange a été incubé pendant 20 min à l'obscurité, suivi de la mesure de l'absorbance à 415 nm contre le blanc.

Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la rutine à différentes concentrations (25; 50; 75; 100; 125; 150; 175; 200 µg/ml) et dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de Rutine par milligramme d'extrait (µg ER/mg d'extrait).

1.4.3. Evaluation de la présence des tanins condensés

Principe

Une évaluation qualitative des tanins condensés a été réalisée par la méthode de la vanilline. En effet, la vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm de longueur d'onde (**Ghedadba et al., 2014**).

Manipulation

Les tanins condensés dans les extraits du *Zizyphus lotus* sont estimés selon la méthode de la vanilline décrite par **Ghedadba et al. (2014)** avec quelques modifications. 1ml de chaque échantillon a été ajouté à 1.5ml de la vanilline solubilisé dans le méthanol et 750µl de l'HCl, puis incubée à l'obscurité pendant 20min. L'évaluation s'est faite à l'œil nu.

1.4.4. Etude in vitro de l'activité antioxydante (anti-radicalaire au DPPH)

Principe

Afin d'évaluer l'action anti-radicalaire, nous avons utilisé une méthode basée sur la réduction du DPPH. (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) qui est un radical libre stable. Lorsque ce dernier est mélangé à une substance qui peut donner un atome d'hydrogène, cela donne naissance à la forme réduite du réactif avec virement de sa couleur violette en jaune (**Molyneux, 2004**).

Manipulation

Le dosage est effectué selon la méthode décrite par **Blois. (1958)** et **Tel et al. (2012)** avec quelques modifications. La solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 7 mg de DPPH dans 100ml de méthanol, et gardé à l'abri de la lumière. L'absorbance de cette solution est 0.887 à 517 nm.

Dans une série de 12 tubes, 160µl de différentes concentrations de chaque extrait (12.5; 25; 50 ; 100 ; 200 ; 400 ; 800 µg/ml) ont été déposés dans les tubes, après 640µl de la solution méthanolique de DPPH fraîchement préparée sont ajoutés. Le mélange est laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 20min, et l'absorbance est mesurée à 517nm.

La décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH et la coloration par rapport au contrôle positif contenant une solution de standard : d'acide ascorbique (10mg/100ml). Différentes concentrations du standard (3.12; 6.25; 12.5; 25; 50; 100; 200 µg/ml) sont aussi utilisées.

L'activité antioxydante est représentée par le pourcentage de piégeage des radicaux DPPH. L'IC₅₀ est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radicale libre. Les valeurs d'IC₅₀ moyennes ont été déterminées depuis les répétitions. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite plus l'activité antioxydante est grande (Pokorny *et al.*, 2001). L'activité anti-radicalaire (antioxydante) est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs_{517} \text{ contrôle} - Abs_{517} \text{ échantillon}) / Abs_{517} \text{ contrôle}] \times 100$$

I (%) : pouvoir d'inhibition en %.

Abs₅₁₇ contrôle: absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait.

Abs₅₁₇ échantillon: absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait.

1.4.5. Activités antimicrobiennes (Diffusion de puits)

Principe

Il s'agit d'une méthode où l'on découpe des trous circulaires dans la gélose pour y verser des extraits à différentes concentrations. Ces extraits se diffusent radialement, créant des zones d'inhibition circulaires sur la surface de la géloseensemencée avec la suspension microbienne (Eymard, 2003).

Manipulation

L'activité antimicrobienne des trois extraits issues de l'extraction fractionnée et de l'extrait éthanolique ont été déterminée par la méthode de diffusion en Milieu gélosé cité par Ghazghazi *et al.* (2014) et Abcha *et al.* (2021) avec quelques modifications. D'abord, les colonies bactériennes jeunes (24h) sont transférées dans des tubes contenant 9 ml d'eau

physiologie stérile de façon à avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à 0.5 McFarland. Pour les champignons des suspensions sporales ont été préparées.

En parallèle, les boîtes de pétri stériles préalablement coulées par les deux milieux : Muller-Hinton (pour les bactéries) et sabouraud (pour les moisissures) sont ensemencées par le biais d'écouvillon en stries de trois côtés. Ensuite, des puits sont creusés dans chaque boîte de Pétrie à l'aide de pipette pasteur, les puits sont remplis par 40µl de chaque extrait (l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'extrait éthanolique et le témoin) d'une concentration de 50mg/ml préparé dans le DMSO. Les boîtes sont laissées 30 min pour permettre la diffusion des substances, puis les incubées à 30°C pendant 24h (pour les bactéries) et à 37°C pendant 48 h (pour les moisissures).

Après incubation la lecture s'effectue en comparaison avec le puits témoin, le diamètre de la zone d'inhibition exprimant l'activité antimicrobienne est mesurée par une règle (mm) (**Figure 14**).



Figure 14 : Les étapes des tests antimicrobiens

Résultats et Discussion

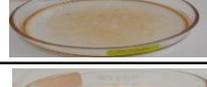
1. Rendements en extraits

L'extraction des molécules bioactives a été effectuée après la macération aqueuse selon la méthode de (Khouchlaa *et al.*, 2017) modifiée. Cette méthode est basée sur l'utilisation de solvants successifs avec des polarités différentes et croissantes, il s'agit de l'hexane suivi du dichlorométhane suivi de l'Acétate d'éthyle. De ce fait, trois différents extraits sont obtenus en plus de l'extrait éthanolique :

- **L'extrait de l'hexane (Hex)** : représente l'extrait le plus apolaire.
- **L'extrait du dichlorométhane (DCM)** : représente l'extrait moyennement apolaire.
- **L'extrait de l'acétate d'éthyle (ACET)** : représente l'extrait polaire.
- **L'extrait éthanolique (BR)** : représente l'extrait le plus polaire.

La couleur et le rendement de chaque extrait par rapport au poids de la poudre du fruit sec de *Ziziphus lotus* sont représentés dans le **tableau 06**.

Tableau 07 : Couleur et rendement des différents extraits du fruit *Ziziphus lotus*.

Extrait	Couleur	Rendement
HE	Transparon 	0,75%
DCM	Marron clair 	5,70%
AE	Marron clair 	0,40%
BR	Marron foncé 	30%

Les rendements des extraits ont été calculés selon l'équation suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{extrait}}/M_{\text{échantillon}}) \times 100$$

Les calculs montrent que l'extrait éthanolique présente le rendement le plus élevé (30%) suivie par l'extrait dichlorométhane (5,70%), l'extrait hexane (0,75%) et en fin l'extrait acétate d'éthyle (0,40%). En effet, l'extraction par trois solvants différents, permet de séparer les composants de notre échantillon, selon leur degré de solubilité dans le solvant approprié (Hagerman *et al.*, 2000).

2. Détermination du contenu total en polyphénols et en flavonoïdes

2.1. Dosage des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont dosés selon la méthode de Folin-ciocalteu, La teneur totale en composés phénolique a été calculée en μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait), par référence à la courbe d'étalonnage (**Figure 15**).

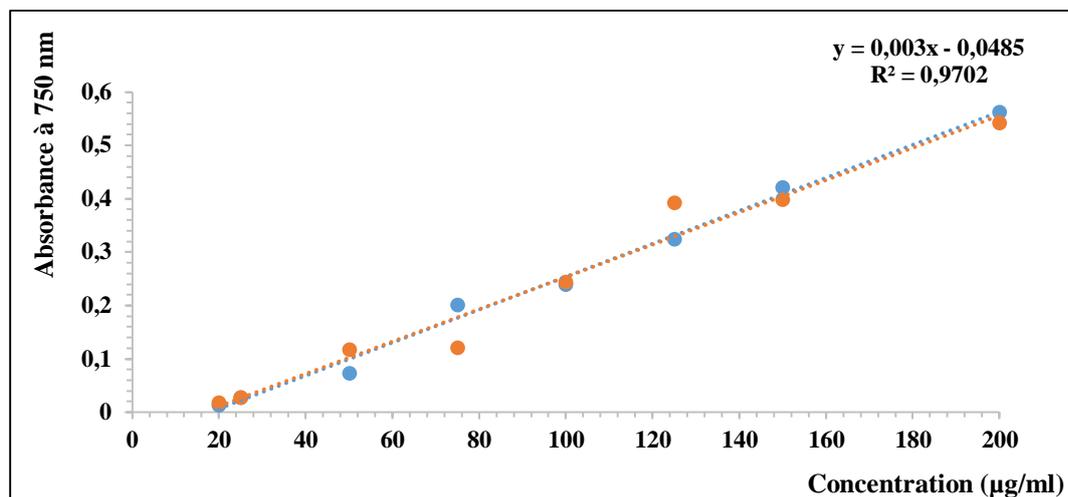


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait (ACET) est le plus riche en polyphénols ($281,33 \pm 1,5 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait) par rapport aux autres. D'autre part les extraits Hex, DCM et l'extrait éthanolique ont montré des valeurs voisines de $26,83 \pm 05 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait, $102,833 \pm 4,333 \mu\text{g}$ EAG /mg d'extrait et $36.83 \pm 1 \mu\text{g}$ EAG /mg d'extrait respectivement (**Figure 16**). Donc l'acétate d'éthyle est le solvant le plus approprié pour l'extraction des polyphénols par rapport aux autres solvants utilisés. Il est à signaler que la valeur de Ext ACET de notre échantillon est bien supérieure à celle notée par **El cadi et al. (2020)**. **Ghazghazi et al. (2014)** trouvent que l'extrait méthanolique des fruits du *Ziziphus lotus* présente une teneur en polyphénols égal à ($2.97 \pm 0,01$ mg /g).

En conséquence, la récupération des polyphénols à partir des matières végétales était en effet influencée par la solubilité des composés polyphénoliques dans le solvant d'extraction (**El cadi et al., 2020**).

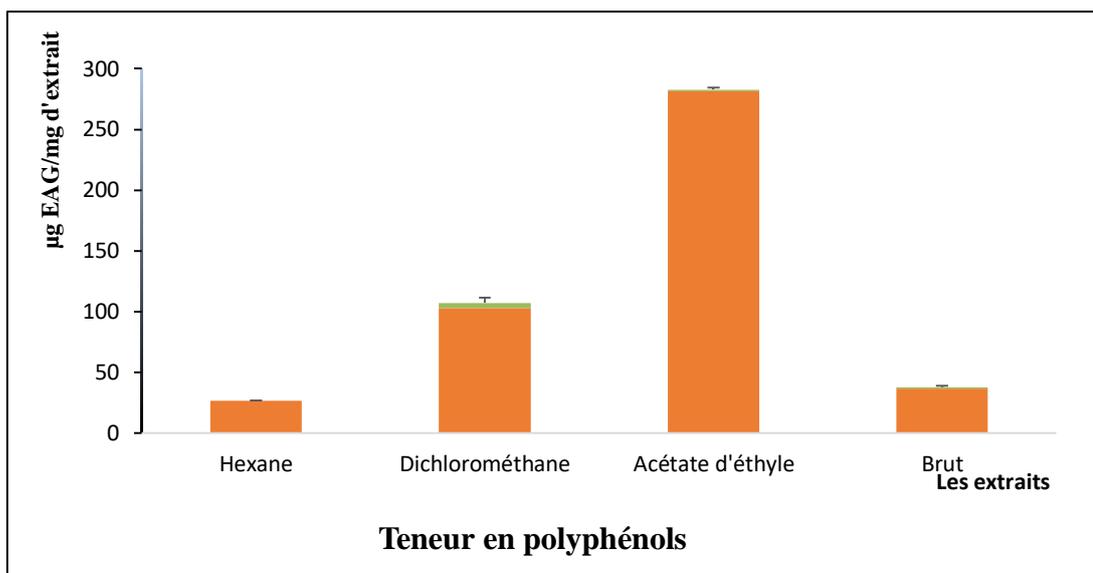


Figure 16 : résultats des polyphénols dans les différents extraits

2.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont dosés selon la méthode de trichlorure d'aluminium, La teneur totale en flavonoïdes a été calculée en µg d'équivalent de Rutine par mg de l'extrait (µg ER/mg d'extrait), par référence à la courbe d'étalonnage (Figures 17).

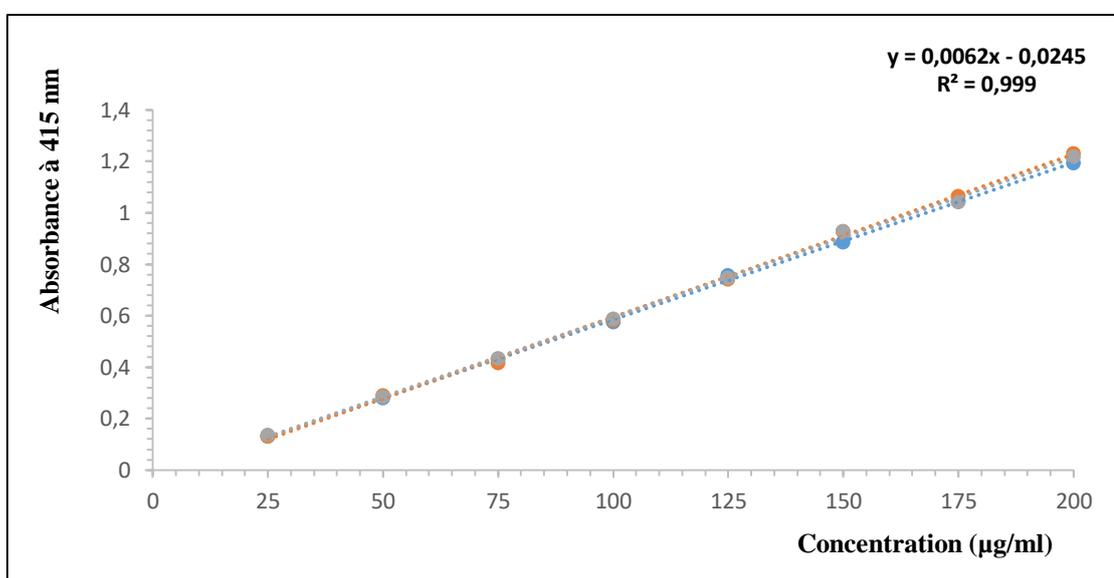


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la Rutine

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait ACET est l'extrait le plus riche en flavonoïdes avec une

teneur de $(127,257 \pm 5.887 \mu\text{g ER/mg d'extract})$, suivi par l'extract DCM $(23,629 \pm 1.129 \mu\text{g ER/mg d'extract})$ et l'extract éthanolique $(19.11 \pm 0 \mu\text{g ER/mg d'extract})$ (**Figure 18**). **El cadi et al. (2020)** trouve la valeur de $(2,0 \pm 0,10 \text{ mg /g})$ dans l'Ext ACET.

Ghazghazi et al. (2014) a trouvé que la teneur en flavonoïdes est de $(1.22 \pm 0,006 \text{ mg /g})$. en travaillant avec un extract méthanolique des fruits du *Ziziphus lotus*. En effet, en tenant compte de la polarité des extraits, il apparaît que la teneur en flavonoïdes dans le *Zizyphus lotus* augmente avec la polarité de l'extract (ACET > DCM).

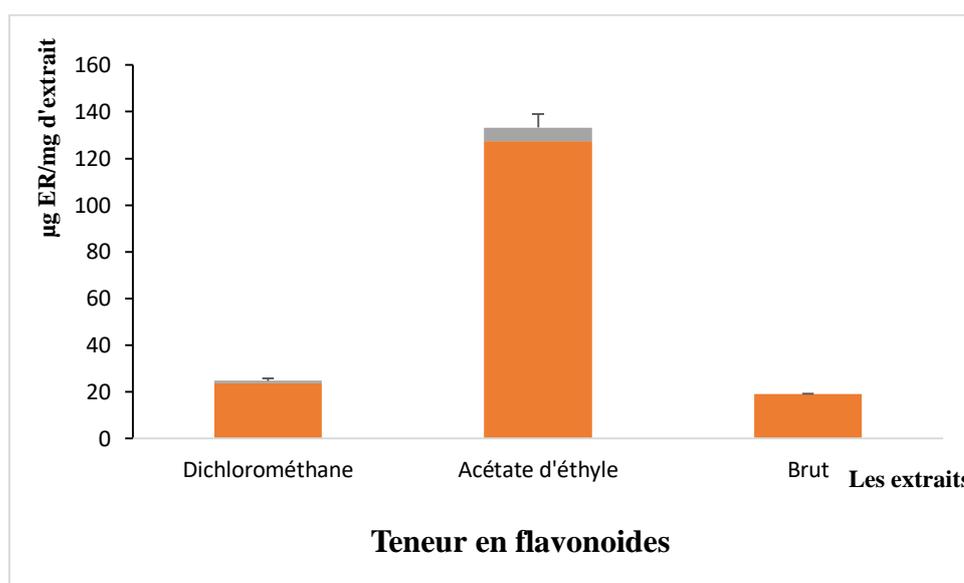


Figure 18 : résultats des flavonoides dans les différents extraits

Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques. En effet, des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Bouziid et al., 2011 ; Aganga et Mosase, 2001**).

2.3. Analyse statistique

Les résultats du dosage de polyphénols et flavonoïdes sont représentés, en moyenne \pm écart-type dans **les tableaux ci-dessous**. L'analyse de la variance (**annexe 1**) des moyennes de teneurs en polyphénols entre les quatre extraits montre qu'il y a une différence hautement significative à $p < 0,0001$, où l'extract acétate d'éthyle représente la fraction la plus riche en composés bioactives $(281,3 \pm 2,121 \mu\text{g EAG/mg d'extract})$ par rapport aux autres extraits de la plante. La même remarque a été signalée dans le dosage des flavonoïdes par la méthode

d'AlCl₃ à p<0,0001, la phase acétate d'éthyle représente la fraction la plus hautement concentrée par comparaison avec les autres fractions organiques collectées. Tandis que l'extrait dichlorométhane présente aussi des concentrations importantes en polyphénols et flavonoïdes.

Tableau 08 : teneur en polyphénols et flavonoïdes dans les extraits de la plante.

Extrait	n- Hex	Dichlo	AcEt	brut
Polyphénols (µg EAG/mg d'extrait)	26,83±0,000	102,8±6,128**	281,3±2,121***	36,83±1,414
Flavonoïdes (µg ER/mg d'extrait)	ND	23,63±1,597	127,3±8,326***	19,11±0,000

*** : hautement significatif ; ** : significatif à alpha< 0,01

Pour conclure cette partie des résultats confirmée par l'étude statistique (annexe 1) on peut dire que la méthode et le choix du solvant influencent sur le rendement d'extraction et la concentration en bio molécules surtout les polyphénols et les flavonoïdes, en réalité le test de Folin mesure non seulement la concentration mais plus précisément la capacité antioxydante totale (Everette *et al.*, 2010).

La polarité des molécules dans les solvants organiques est un facteur très important dans l'extraction et l'augmentation du rendement ainsi que le fractionnement (la séparation), c'est l'une des raisons de l'obtention de concentrations élevées dans une fraction que dans l'autre ((Shah *et al.*, 2018 ; Kebaili FF *et al.*, 2022).

De plus, plusieurs auteurs ont rapporté que les solvants d'acétate d'éthyle et le *n*-butanol peuvent solubiliser et extraire les polyphénols et les flavonoïdes en teneur élevée, selon leurs polarités (Thavamoney *et al.*, 2018 ; Kebaili FF *et al.*, 2022).

3. Evaluation de la présence des tanins condensés

Les tests préliminaires qualitatifs pour la mise en évidence des tanins dans les différents extraits de fruit du *Zizyphus lotus* révèlent la présence des tanins dans l'extrait (ACET), et leur absence dans les autres extraits (Hex et DCM) (Figure 19). En effet, L'apparition de la couleur rouge reflète la présence des tanins condensés dans les extraits polaires, alors que

son absence est totale dans les extraits apolaires. Les mêmes résultats sont trouvés par **Borgi et al. (2007)**.

A l'égard de ces résultats, la présence des tanins dans les fruits du *Zizyphus lotus* est évidente, ce qui est en accord avec les résultats déjà obtenus par **Borgi et al. (2007)**.



Figure 19 : Résultat de test des tanins condensés des différents extraits (Hex, DCM, ACET) des fruits du *Zizyphus lotus*

4. Activité anti-radicalaire au DPPH

L'activité antioxydante des trois extraits Hex, DCM et ACET vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, la lecture de l'absorbance se fait à 517nm. Le DPPH (diphényl picrylhydrazyl) est un radical libre organique, toujours utilisé comme un réactif pour évaluer l'activité anti radicalaire des antioxydants (**Hidayat et al., 2017**). Qui est un paramètre employé pour quantifier l'activité antioxydante d'un produit chimique. La valeur d'IC₅₀ d'une substance antioxydante correspond à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % d'un oxydant impliqué. Plus la valeur d'IC₅₀ est faible plus l'activité antioxydante est élevée (**Prakach et al., 2007**). Les valeurs de la concentration inhibitrice (IC₅₀) des différents extraits ayant montrés une activité antioxydante (DCM et ACET) et le standard (acide ascorbique) sont représentés dans **le tableau 08**.

Tableau 09 : Activité antioxydante des extraits de *Ziziphus lotus* et acide ascorbique.

Extracts	% Inhibition in DPPH assay							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
Dichlorométhane	NA	2,53±0,65	8,17±1,30	12,04±0,81	29,52±1,68	59,25±0,93	68,06±0,84	291.50±2.67
Acétate-d'éthyle	3.12 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/mL
	5,32±0,28	16,61±1,12	35,22±1,58	56,72±0,47	68,28±0,09	68,60±0,41	69,09±0,09	21.48±0.47
Ascor. Ac ^b	3.12 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/mL
	11,51±0,74	18,23±1,12	25,59±1,86	41,51±2,61	67,47±0,37	68,60±0,09	71,18±1,30	33.79±1.07

Les résultats obtenus montrent une activité anti radicalaire importante dans l'acétate d'éthyle (IC₅₀ = 21.48 µg /ml) par rapport à l'extrait dichlorométhane l'IC₅₀= 291.50±2.67 et en comparaison avec l'antioxydant standard (l'acide ascorbique) qui donne un IC₅₀= 33.79µg/ml. Nous pouvons conclure que l'extrait ACET est plus actif que le standard lui-même d'où l'importance de cette fraction.

Ces résultats sont proches à celui noté par **Bencheikh et al. (2023)** qui a démontré que les valeurs IC₅₀ des extraits de MtOH et AqE sont de 15.15µg/ml et 11-30µg/ml respectivement.

khouchlaa et Tijane. (2020) rapportent des IC₅₀ égale à 0.5mg/ml et 0.7 mg/ml pour l'acide ascorbique et l'extrait au méthanol respectivement. A l'inverse, les autres extraits (dichlorométhanique et hexanique) avaient une activité (DPPH) plus faible que l'extrait méthanolique.

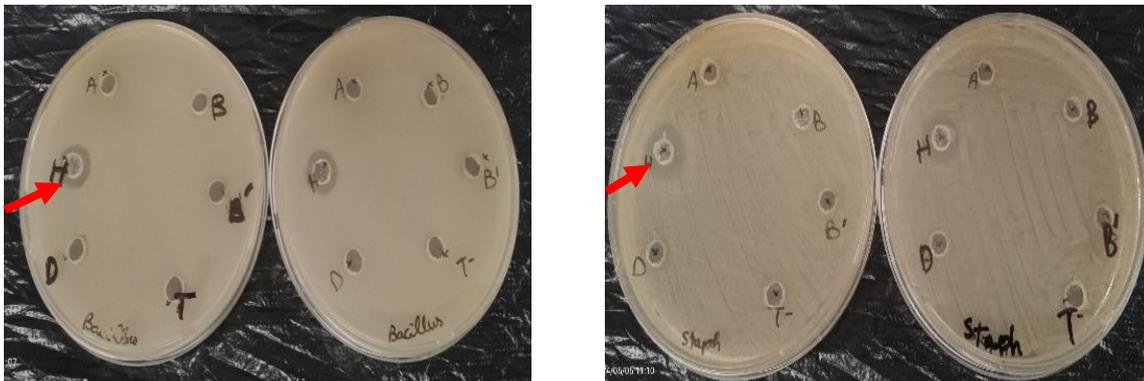
Les résultats de l'activité antioxydante in vitro sont corrélés avec les résultats des polyphénols et des flavonoïdes notés dans l'extrait ACET où nous avons obtenus de fortes concentrations par rapport aux autres extraits.

5. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des différents extraits des fruits du *Zizyphus lotus* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, elle est définie par l'absence de la croissance bactérienne autour du puits. L'inhibition de la croissance microbienne se traduit par une zone d'inhibition représentée par un halo translucide. En classant la sensibilité des souches testées selon le diamètre de la zone d'inhibition comme suit:

- Non sensible : $\varnothing < 8$ mm
- Sensible (+) : $\varnothing \geq 9$ mm

(**Benkiki, 2006**), les résultats d'inhibition de la croissance bactérienne sont représentés dans les figure 20 et 21.



(a)

(b)

Figure 20 : La présence d'une zone d'inhibition en présence de l'extrait (Hex) sur les deux cultures *Bacillus subtilis* (a), *Staphylococcus aureus* (b).



(c)



(d)



(e)

Figure 21 : L'absence de zones d'inhibition en présence des extraits (Hex, DCM, ACET, BR) sur *Escherichia coli* (c), *Klebsiella pneumoniae* (d), *Salmonella typhimurium* (e).

Les bactéries *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* sont sensible à l'extrait (Hex) présentant des zones d'inhibition de diamètres estimés à 12mm et 13mm ($\varnothing \geq 9$ mm) respectivement. Les résultats obtenus par l'analyse GC-MS de la fraction n-hexane sur les fruits de *Ziziphus lotus* ont montré la présence de lipides, d'alcane, d'alcools, de stérols et de terpénoïdes (El cadi *et al.*, 2020). Ces derniers sont susceptibles de conférer des propriétés antimicrobiennes à cette plante (Belhachat, 2019). Par contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium* sont résistant à tous les extraits (tableau 09). Il apparaît que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (Gram +) sont plus sensibles en comparaison avec les autres souches *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium* (Gram -). Ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positives et ceux à Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries à Gram positives est constituée d'une seule couche de peptidoglycane, alors que la paroi

cellulaire des bactéries à Gram négatives a une structure multicouches liée par une membrane cellulaire extrême (Ali – Shtayeh *et al.*, 1998).

Selon Ghazghazi *et al.* (2014) qui ont utilisé l'extrait méthanolique de fruit de *Ziziphus lotus* dans les tests antimicrobiens, les souches (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*) se sont montrées sensibles.

Tableau 10 : Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne par différents extraits du *Ziziphus lotus*.

	Hexane	Dichlorométhane	Acétate	Brut	Brut'
<i>Staphylococcus aureus</i>	13 mm	0	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	12 mm	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumonia</i>	0	0	0	0	0
<i>Salmonella typhimurium</i>	0	0	0	0	0

6. Activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique en présence des extraits testés par la méthode de diffusion en milieu gélosé ne montrent aucune activité antifongique sur les champignons (*Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*) (Figure 22).

Ghazghazi *et al.* (2014) montrent que l'extrait méthanolique préparé à partir de fruits de *Z. lotus* possède une activité antifongique contre les différents isolats fongiques testés (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*).

En effet, les différences entre les résultats peuvent par la nature des métabolites bioactives contenus dans l'extrait, des espèces végétales, des parties de la plante utilisées, de la méthodologie d'extraction, des concentrations des extraits et de la technique d'évaluation de la bioactivité (Tadjine *et al.*, 2019).

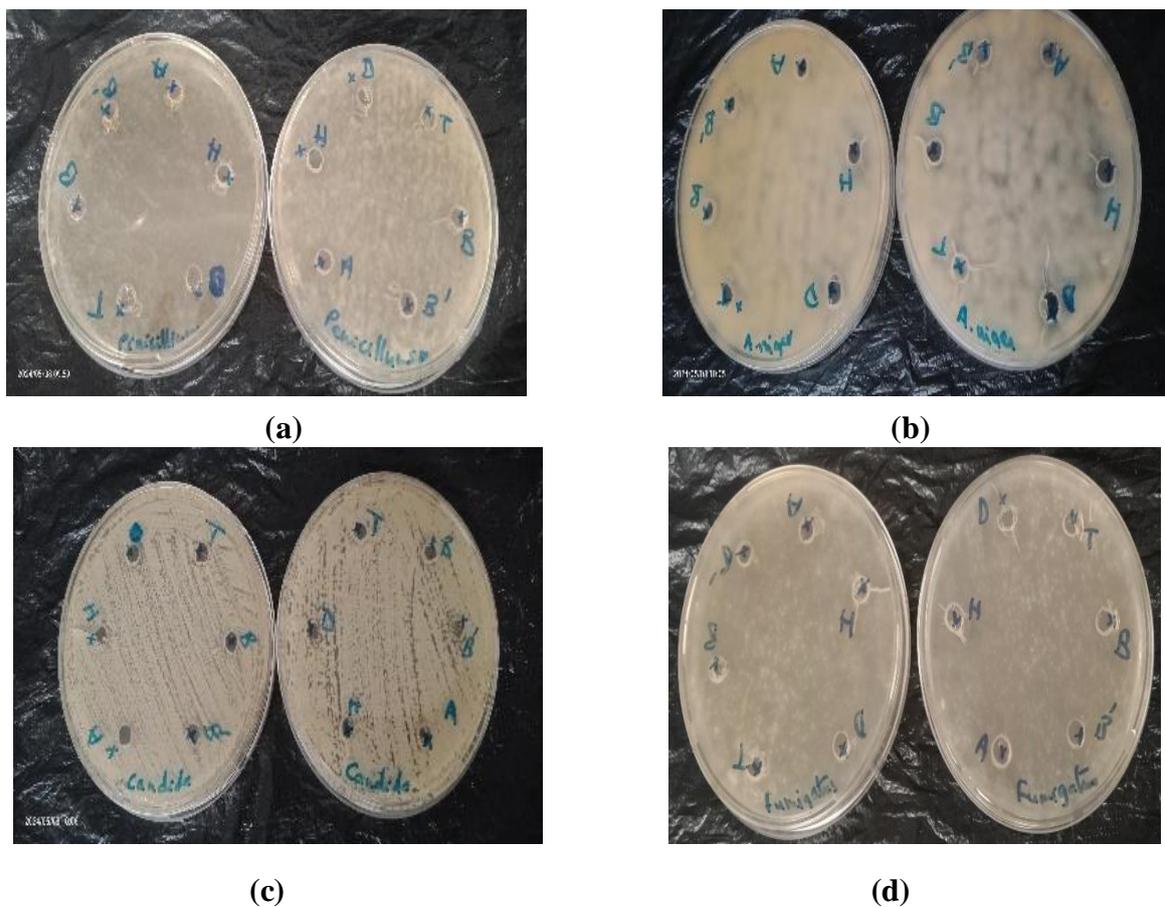


Figure 22 : Absence de zones d'inhibition des extraits (Hex, DCM, ACET, BR) vis-à-vis de *Penicillium sp* (a), *Aspergillus niger* (b), *Candida albicans* (c), *Aspergillus fumigatus*(d).

Conclusion

Le travail réalisé s'intéresse à l'étude phytochimique des fruits de *Ziziphus lotus* ainsi que le pouvoir antioxydant et antimicrobien des différents obtenus. Les résultats ont montré un grand potentiel de ces fruits en tant que source de plusieurs composés bioactifs

L'analyse phytochimique des extraits montrent que la fraction acétate d'éthyle a les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes, et en tanins condensés, l'évaluation de cette dernière est qualitative.

L'activité antioxydante des différents extraits a été testée par la méthode du radical libre, DPPH qui a révélé que l'extrait acétate d'éthyle est l'extrait le plus actif par rapport aux autres extraits et par rapport au standard.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien. Seul l'extrait hexane a montré sur certaines souches bactériennes une inhibition estimée par une zone d'inhibition entre 12 et 13mm ; ce qui a permis de conclure que les bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) sont les plus sensibles alors que les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhimurium*) se sont avérées moins sensibles. D'autre part, les souches fongiques testées (*Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*) n'ont pas été inhibées par aucun extrait testé.

Par conséquent, un élargissement de cette étude s'avère nécessaire afin de compléter nos résultats. D'autres tests peuvent être utilisés pour confirmer les résultats obtenus et enrichir le travail porté sur *Z. lotus*. En effet, celle-ci peut contenir des composés actifs dans certains domaines tels que le cancer, les troubles métaboliques, l'inflammation et les maladies liées à l'âge ainsi que leurs mécanismes d'action.

Effectuer l'analyse instrumentale détaillée GC/MS pour mieux caractériser les substances bioactives de *Ziziphus lotus* dans les différents extraits est l'une des perspectives proposées pour compléter tous les travaux réalisés sur cette espèce végétale.

*Références
bibliographiques*

A

Abcha I., Ben Haj Said L., Salmieri S., Criado P., Nefatil M. and Lacroix M. (2021). Optimization of extraction parameters, characterization and assessment of bioactive properties of *Zizyphus lotus* fruit pulp for nutraceutical potential. *European Food Research and Technology*.

Abdoul-Azize S. (2016). Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus L.*) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2016, p : 13.

Adzu B., Amos S., Amizan MB. and Gamaniel K. (2003). Evaluation of the antidiarrheal effects of *Zizyphus spina-christi* stem bark in rats. *Acta Tropica*, 7, p : 245-250.

Aganga AA. and Mosase KW. (2001) Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Zizyphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Anim Feed Sci Technol*, 91, p : 13-107.

Ali-Rachedi F., Meraghni S., Touaibia N. et Mesbah S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L.* *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 87.

Aryal S., Baniya MK., Danekhu K., Kunwar P., Gurung R. and Koirala N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, p : 8-96.

Agbor G., Vinson J. and Donnelly PE. (2014). Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*, 3(8), p : 147-156.

B

Balasundram N., Sundram K. and Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, p : 191-203.

Benammar C., Hichami A., Yessoufou A., Simonin AS., Belaribi M., Allali H. and Khan NA. (2010). *Zizyphus lotus L. (Desf.)* modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC Complement Alternative Medicine*, p : 9.

- Bencheikh N., Radi F Z., Fakchich J., Elbouzidi A., Ouahhoud S., Ouasti M., Bouhrim M., Ouasti I., Hano C. and Elachouri M. (2023). Ethnobotanical, Phytochemical, Toxicological, and Pharmacological Properties of *Ziziphus lotus* (L.) Lam. *Pharmaceutica*, 16(4), p : 575.
- Benkiki N. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse Doctorat : Chimie. UNIVERSITE BATNA 1 - HADJ LAKHDAR, 198 p.
- Belhachat D. (2019). Etude phytochimique des extraits de *Pistacia lentiscus* (L.). Activité antioxydante, antimicrobienne et insecticid. Thèse Doctorat : Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique- El-Harrach-Al, 296 p.
- Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), p : 1199-1200.
- Borgi W., Bouraoui A. and Chouchane N. (2007). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, p : 228-231.
- Boussaid M., Taibi K., Ait Abderrahim L. and Ennajah A. (2018). Genetic diversity of *Ziziphus lotus* natural population from Algeria based on fruit morphological markers. *Taylor et francis*, p : 14.
- Bouزيد W., Yahia M. et Abdeddaim M. (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Leban Sci J*, 12:1.
- BRUNETON J. (1999). Pharmacognosie phytochimie plante médicinales. *Édition N 3 : Tec et Doc, Paris*, 1120 p.

C

- Cadi E., Bouzidi EH., Selama G., Cadí ES., Ramdan B., Oulad El Majdoub Y. and Alibrando F. (2020). Physico-Chemical and Phytochemical Characterization of Moroccan Wild Jujube “*Zizyphus lotus* (L.)” Fruit Crude Extract and Fractions. *Molécules*, 25(22), p : 5237.
- Chentouf NC., Meddah TT., Belgharbi A., Temmouri HB. and Meddah B. (2018). Phytochemical and antimicrobial screening of fruits and leaves of *Zizyphus lotus* L. collected in North West of Algeria. *Maghrebian Journal of Pure and Applied Science*, 4(1), p : 50-58.

Chouaibi M., Mahfoudhi N., Rezig L., Dons`I F., Ferraria G. and Hamdib S. (2012). Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *J Sci Food Agric*, 92, p : 1171–1177.

Chung KT., Wei CI. and Johnson MG. (1998). Are tannins a double-edged sword in biology and health?. *Trends in Food Science ET Technology*, 9(4), p : 168-175.

Choia YM., Nohb DO., Choc SY., Suhd HJ., Kimd KM. and Kim JM. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*, 39, p : 756-761.

D

Dahlia F., Barouagui S., Hemida H., Bousaadia D. and Rahmoune B. (2020). Influence of environment variations on anti-glycaemic, anti-cholesterolemic, antioxidant and antimicrobial activities of natural wild fruits of *Zizyphus lotus* (L.). *South African Journal of Botany*, 132, p : 215-225.

De Bruyne T., Pieters L., Deelstra H. and Vlietinck A. (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27, p : 445-459.

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

E

Epraim KD., Osunkwo UA., Onyeyilli P. and Ngulde A. (1998). Preliminary investigation of the possible antinociceptive activity of aqueous leaf extract of *Zizyphus spina-christi* (L.) Desf. *Indian Journal Pharmacol*, 30, p : 271-272.

Epifano F., Genovese S., Menghini L. et Curini S. (2007). Chimie et pharmacologie des métabolites Végétaux secondaires oxyprénylés. *Phytochimie*, 68(7), p : 939-953.

Everette JD., Bryant QM., Green AM., Abbey YA., Wangila GW. and Walker RB. (2010). Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin- Ciocalteu reagent. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 58(14), p : 8139-8144.

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

F

Farhadi F., Khameneh B., Iranshahi M. and Iranshahi M. (2018). Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship. *Phytotherapy Research*, p : 1–28.

Favier A., (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Annales de biologie chimique*, p : 108-115.

Ferrazzano GF., Amato I., Ingenito A., Zarrelli A., Pinto G. and Pollio A. (2011). Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties. *Molecules*, 16(2), p : 1486-1507.

G

GEORGEÄ S., BRAT P., ALTER P. and AMIOT MJ. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, p : 1370–1373.

Ghazghazi H., Aouadhi C., Riahi L., Maaroufi A. and Hasnaoui B. (2014). Fatty acids composition of Tunisian *Ziziphus lotus* L. (Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 28(14), p : 1106-1110.

GHEDADBA N., HAMBABA L., ABERKANE MC., Oueld-Mokhtar SM., FERCHA N. et BOUSSELSA H. (2014). Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2 (2), p : 64-74.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4, p: 162-169.

Ghedira K. (2013). *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. *Ethnobotanique–monographie*, 11, p : 149-153.

H

Hagerman AE., Riedl KM., Jones GA., Sovik KN., Ritchard NT., Hartzfeld PW. and Riechel TL. (1998). High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *J.Agric. Food Chem*, 46, p : 1887-1892.

Hassanpour S., Maheri-Sis N., Eshratkhah B. and Mehmandar FB. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins). *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 1(1), p : 47-53.

J

Jiang Z., Kempinski C. and Chappell J. (2016). Extraction and analysis of terpenes/terpenoids. *Current Protocols in Plant Biology*, 1, p : 345-358.

JUDD WS., CAMPBELL CS., KELLOGG EA. et STEVENS P. (2002). Botanique Systématique : une perspective phylogénétique. *Ed 1 DEBOECK*, p : 84-336.

K

Khanbabaee K. and Van Ree T. (2001). Classification and Definiton. *The Royel society of chemistry*, 18, p : 641-649.

Kebaili FF et Nouadri T. (2022). Bioévaluation du champignon sauvage *Ganoderma lucidum* d'Algérie (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

Khouchlaa A., Talbaoui A., El Idrissi EY., Bouyahya A., Ait Lahsen S., Kahouadji A. et Tijane M. (2017). Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L.d'origine marocaine. *Phytotherapie*, p : 2-6.

Khouchlaa A. and Tijane M. (2020). Chemical compounds, antioxidant activity, and in vitro and in silico litholytic effects of *Zizyphus lotus* extract. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, p : 1-12.

Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat : ÉCOLOGIE ET CHIMIE DES SUBSTANCES NATURELLES. Muséum national d'histoire naturelle, 345 p.

L

LE POGAM P., CHOLLET-KRUGLER M. et BOUSTIE J. (2015). Présentation des métabolites secondaires lichéniques : de leur biosynthèse à leur rôle au sein du thalle lichénique. *Bull. Ass. fr. lichénologie*, 40 (2), p : 201-210.

LEURENT. (2012). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêts économique *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister. Univ de Constantine 1, 41 p.

Lugasi A., Hovari J., V.Sagi K. and Biro L. (2003). The role antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), p : 119-125.

M

MANSOUR A. (2009). Investigation photochimique de l'extrait n- butanol de l'espèce *centaurea AFricanai*.

Maraghni M., Gorai M. and Neffati M. (2010). Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of *Ziziphus lotus*. *South African Journal of Botany*, 76(3), p : 453-459.

Memarpoor-Yazdi M., Mahaki H. and Zare-Zardini H. (2013) .Antioxidant activity of protein hydrolysates and purified peptides from *Zizyphus jujuba* fruits. *Journal of Functional Foods*, 5(1), p : 62-70.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), p : 211-219.

Montes-Ávila J., López-Angulo g. and Delgado-Vargas F. (2018). Tannins in Fruits and Vegetables: Chemistry and Biological Functions. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*, 1, p : 221-267.

Moulessehouli Y I., Megharbi A. and Benchiha W. (2023). Ethnobotanical Study on *Ziziphus lotus* L in Western Algeria (Relizane). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences C. Physiology & Molecular Biology*, 15(1), p : 143-151.

MUNIER P. (1973). LE JUJUBIER ET SA CULTURE. *Fruits*, 28(5), p : 377-388.

N

Naili MB., Alghazeer RO., Saleh NA. and Al-Najjar AY. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab J Chem*, 3, p : 79-84.

P

Peronny S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (Lemur catta). Thèse de doctorat : Éco-Ethologie. Muséum national d'histoire naturelle, 151 p.

Q

Quezel P. et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome 2. *Centre national de la recherche. Paris*, p : 565.

R

Rais C. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of pulp extracts from three populations of *Ziziphus lotus* L. *Nutrition & Food Science*, 49 (6), p : 1014-1028.

S

Saadoudi M. (2019). Caractérisation biochimique, conservation et essais d'élaboration des produits alimentaires à base du fruit de *Ziziphus lotus* L. Thèse Doctorat : Sciences Agronomiques. UNIVERSITE BATNA 1 - HADJ LAKHDAR, 155 p.

SANDRINE L. (2004). Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de Légumineuses. Thèse de doctorat : Biochimie. L'institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 260 p.

Scheidt H., Pampel A., Nissler L., Gebhardt R. and Huster D. (2004). Investigation of the membrane localization and distribution of flavonoids by high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy. *Biochimica et Biophysico Acta (BBA)-Biomembranes*, 1663, p : 97-107.

Shen N., Wang T., Gan Q., Liu S., Wang L. and Jin B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 383, p : 132-531.

Shah SR., Ukaegbu CI., Hamid HA. And Alara OR. (2018). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of the stems of *Flammulina velutipes* and *Hypsizygus tessellatus* (white and brown var.) extracted with different solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), p : 1947-1961.

Sieniawska E. and Baj T. (2017). Tannins. *Medical University of Lublin, Lublin, Poland.*

T

Tadjine N., Messgo-Moumene S., Aissat AEK., Saddek D., Javaid A. and Ben Hadda T. (2019). In vitro evaluation of the antifungal potential of *Zizyphus lotus* L. against toxigenic molds of hydroponic barley. *Mycopath*, 17(1), p : 39-43.

Tel G., Apaydın M., Duru ME. and Öztürk M. (2012). Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia. *Food Analytical Methods*, 5(3), p : 495-504.

Thavamoney N., Sivanadian L., Tee LH., Khoo HE., Prasad KN. and Kong KW. (2018). Extraction and recovery of phytochemical components and antioxidative properties in fruit parts of *Dacryodesrostrata* influenced by different solvents. *Journal of food science and technology*, 55(7), p : 2523-2532.

V

Vuolo MM., Lima VS. and Junior MRM. (2019). Phenolic Compounds: structure, Classification, and Antioxidant Power. *Bioactive Compounds*, p : 33-50.

Z

Zengin G., Aktumsek A., Guler GO., Cakmak YS. and Yildiztugay E. (2011). Antioxidant Properties of Methanolic Extract and Fatty Acid Composition of *Centaurea urvillei* DC.subsp. *Hayekiana* Wagenitz. *Records of Natural Products*, 5 (2), p : 123-132.

ZENK MH. and JUENGER M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68, p : 2757-2772.

Annexes

Tableau 1: Test d'analyse de la variance à un facteur à $\alpha < 0.05$ polyphénols

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Facteur (intergroupes)	83322	3	27774	F (3, 4) = 2522	P<0,0001
Résidus (intra-groupes)	44,05	4	11,01		
Totale	83366	7			

SS : somme des carrés des écarts.

MS : moyennes carrées.

DF : degré de liberté

DF (intergroupes) : nombre de traitement (facteur) – 1 = $K-1 = 4-1 = 3$

DF (intragroupes) : nombre de résidus – $K = 8-4 = 4$

F calculé = 2522

F table = 6.591

Tableau 2: Test d'analyse de la variance à un facteur à $\alpha < 0.05$ flavonoïde

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Facteur (intergroupes)	14970	2	7485	F (2, 3) = 312,4	P=0,0003
Résidus (intra-groupes)	71,87	3	23,96		
Totale	15042	5			

SS : somme des carrés des écarts.

MS : moyennes carrées.

DF : degré de liberté

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : Boulacheb Nada
Benabidi Aya
Derdouri chahinaz

Étude phytochimique et activités antimicrobiennes des extraits de *Ziziphus lotus*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Mycologie et Biotechnologies Fongique

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances naturelles bioactives, qui ont des applications dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux. *Ziziphus lotus* est une plante médicinale traditionnellement herbacée. Le présent travail consiste à évaluer la richesse des fruits de cette plante en polyphénols totaux et flavonoides. Aussi l'effet antioxydant et l'activité antimicrobienne (antifongique et antibactérienne) des différents extraits préparés à partir du fruit *Ziziphus lotus*, ont été examinés. L'extraction fractionnée après macération de 24h en utilisant des solvants de polarités croissantes a permis de calculer les rendements qui ont été égaux à 0,75% ; 5,70% et 0,40% pour l'hexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle respectivement. La composition de ces extraits en polyphénols, flavonoïdes et en tanins est évaluée en adoptant les méthodes de Folin-Ciocalteu, $AlCl_3$, Vanilline respectivement. Les résultats montrent que l'extrait acétate d'éthyle donne les plus importants taux en polyphénols totaux ($281,33 \mu\text{g EAG/mg d'extract} \pm 1,5$), en flavonoides ($127,257 \mu\text{g ER/mg d'extract} \pm 5,887$) et en tanins (estimation qualitative) par rapport aux autres extraits. Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de réduction du radical libre DPPH, les résultats montrent que ces extraits possèdent des activités antioxydant différentes dont la plus importante est notée dans l'extrait ACET ($21,48 \pm 0,47 \mu\text{g/ml}$). Les résultats de l'activité antimicrobienne montrent que l'extrait Hex exerce une activité antimicrobienne sur *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Pour le pouvoir antifongique, les extraits testés n'ont aucune activité inhibitrice vis-à-vis de *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*.

Mots-clefs : *Ziziphus lotus*, activité antimicrobienne, polyphénols totaux, activités antioxydant, pouvoir antifongique.

Laboratoires de recherche : laboratoire de biologie et environnement (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : Mme MEZIANI Meriem (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine1).

Encadrant : Mme BENKAHOUL Malika (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : Dr TOUMI Mohammed. E (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).