

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante de la flore marocaine, il s'agit du *Zizyphus lotus*. Dans une première partie de ce travail, nous avons caractérisé deux huiles extraites à partir des amandes des fruits du *Zizyphus lotus* ; l'une extraite par pression mécanique et l'autre par solvant organique. La caractérisation de ces huiles végétales a révélé la présence de l'acide oléique comme constituant majoritaire d'un taux de 66,8% et le total des acides gras insaturés est d'environ 84% dont les acides monoinsaturés représentent 69%. Le β -sitostérol représente le stérol principal avec un taux de 71%. L'analyse par HPLC des tocophérols de l'huile du *Zizyphus lotus* a montré l'existence du γ -tocophérol comme composant majoritaire avec un taux de 91,39 % à 100%.

L'évaluation de la capacité antioxydante in vitro par deux méthodes colorimétriques (DPPH et FRAP) a révélé que les deux extraits éthanoliques du *Zizyphus lotus* (amandes et pulpe des fruits) ont une activité antioxydante modérée, et la quantification des composés phénoliques totaux a montré que l'extrait éthanolique de la pulpe renferme une teneur en flavonoïdes de (3,62 mg EQ/g MS) plus importante que celle contenue dans l'extrait EEA des amandes (2,11 mg EQ/g MS). Le taux de polyphénols est 3,32 mg EAG/g MS pour la pulpe est supérieure trois fois à celui des amandes (1,39 mg EAG/g MS). Par ailleurs, la détermination du pouvoir antibactérien à partir des extraits du *Zizyphus lotus* sur les microorganismes testés a montré que leur efficacité dépend de la nature de l'extrait ainsi que la souche bactérienne testée. Et les CMI sont aux alentours de 50 à 100 mg/mL.

Une deuxième partie de ce travail consistait à la détermination de la valeur nutritionnelle de la pulpe et des amandes des fruits du *Zizyphus lotus*. Cette étude a montré qu'elles contiennent des quantités appréciables en nutriments. L'analyse par ICP a montré que ces deux parties sont riches en minéraux notamment en calcium, magnésium et potassium. L'étude de la composition des amandes a révélé la présence de la matière grasse environ 29,95% et une teneur en sucre totaux de l'ordre de 1.2% largement inférieure à celle détectée dans la pulpe (24,8%). Les deux parties du fruit contiennent des valeurs modérées en vitamine A et C, par conséquent cette composition répond aux besoins journaliers en ces nutriments. La richesse des fruits du *Zizyphus lotus* par ces éléments nutritifs essentiels nous a permis d'intégrer la poudre dans la formulation de divers produits alimentaires.

La composition de l'huile des amandes de *Zizyphus lotus* en acides gras insaturés et polyphénols, stérols en tocophérols et en Vitamine A et C nous a conduit de l'intégrer dans la formulation des crèmes hydratantes comme matière grasse.

 Faculté des Sciences et Techniques
 Settat

THÈSE DEDOCTORAT

Pour l'obtention de grade de Docteur en chimie analytique

Formation Doctorale : Chimie Appliquée et Environnement...

Spécialité: chimie analytique et formulation

Sous le thème

Etude et valorisation du *Zizyphus lotus* (L). Desf : composition, formulation et activité antioxydante

Présentée par :

Naima MAKHDAR

Soutenue le : 17 Février 2021 à 14H30

A la Faculté des Sciences et Techniques de Settat devant le jury composé de :

Pr. Abdeljalil ZOUHRI	PES	Université Hassan 1 ^{er} , FST-Settat	Président
Pr. Mohammed RAMDANI	PES	Université Mohammed 1 ^{er} , FS-Oujda	Rapporteur
Pr. Said HILALI	PES	Université Hassan 1 ^{er} , FST-Settat	Rapporteur
Pr. Abdallah ANOUAR	PES	Université Hassan 1 ^{er} , FST-Settat	Examineur
M. Nouredine RSAISSI	Docteur, Expert	ONSA/SPMOCA, Settat	Examineur
Pr. Lahboub BOUYAZZA	PES	Université Hassan 1 ^{er} , FST-Settat	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2020/2021

Avant-propos

Ce mémoire rentre dans le cadre de l'obtention du diplôme de Doctorat. Le travail de thèse a été réalisé sous la direction du Professeur Lahboub BOUYAZZA au sein du laboratoire des Substances Naturelles et Matières Organiques à la Faculté de Sciences et Techniques de Settat. Il s'inscrit dans le cadre de valorisation d'une plante de la flore marocaine, il s'agit du *Zizyphus lotus(L)*, qui est largement répandu dans le Maroc et dont certaines parties ne sont pas encore bien exploitées (amandes).

L'étude s'est portée sur la détermination de la composition chimique des huiles extraites à partir des amandes des fruits du *Zizyphus lotus*, à partir desquelles nous avons procédé à des formulations des crèmes cosmétiques ; ensuite des extraits obtenus à partir de deux parties des fruits du *Zizyphus lotus* ont été évalués pour l'activité antioxydante et antibactérienne. La poudre des fruits entiers a été utilisée pour la formulation des produits alimentaires riches en minéraux, en vitamines et en plusieurs éléments nutritifs.

Les analyses de différents extraits ont été réalisées au moyen des techniques chromatographiques CPG et HPLC et par la spectrométrie à Plasma à Couplage Inductif (ICP) du Laboratoire officiel d'analyses et de recherches chimiques (LOARC) de Casablanca. Les tests d'irritabilités et de l'activité antibactérienne sont réalisés à l'institut Pasteur de Casablanca.

L'activité antioxydante est déterminée par le spectromètre d'absorption UV à la Faculté des Sciences et Techniques de Settat.

Remerciements

Tout d'abord, Je tiens à remercier Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce travail.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères au Professeur **Lahboub BOUYAZZA**, directeur de Thèse, pour son soutien, son encadrement, son enthousiasme communicatif et sa confiance. Je lui suis également reconnaissante de son aide scientifique et administrative, de ses conseils et de la patience qu'il m'a accordée tout au long de ce travail.

Je remercie particulièrement les professeurs qui ont accepté de faire partie du jury.

Pr. Mohammed RAMDANI ayant bien voulu accepter d'évaluer ce travail, mes honneurs pour son acceptation de faire partie du jury.

Pr. Abdellah ANOUAR qui malgré ses charges administratives et professionnelles, à accepter d'examiner mes résultats et de participer au jury, je lui exprime mes très sincères remerciements.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur le **Pr. Abd Eljalil ZOUHRI** d'avoir accepté d'examiner et juger cette thèse.

Au Professeur **Saïd HILALI** pour le grand honneur qu'il me fait, en acceptant de juger ce travail.

J'adresse également mes remerciements à Madame la Professeure **Badiaa LYOUSSI** pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de juger ce travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à **M. Noureddine RSAISSI** pour son acceptation de faire partie du jury.

Mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui auront contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse.

Je souhaite que cette thèse puisse être un support assez valorisant et profitable pour ceux qui auront à l'utiliser.

Dédicaces

A mon père (In memoriam) que Dieu ait son âme en sa miséricorde

A mon grand-père (In memoriam) que Dieu ait son âme en sa miséricorde

A ma petite sœur Siham (In memoriam) que Dieu ait son âme en sa miséricorde

A ma mère

Les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je te porte, ni la profonde gratitude que je te témoigne.

A mon mari

En témoignage de mon affection et reconnaissance pour tout ce qu'il m'a donné ; Sans toi je ne serais jamais arrivée jusqu'au là, et cette Thèse n'aurait jamais vu le jour; je te remercie pour ton soutien et ton amour inconditionnel. Tu n'as jamais hésité à te sacrifier pour ma réussite et mon bonheur.

A ma sœur et mes frères

En témoignage de leur aide, leur disponibilité et surtout leur compréhension précieuse de ma situation dont je suis reconnaissante.

A mon fils

Qu'il me pardonne pour toute mon absence, qu'il trouve ici mon amour éternel.

A ma meilleure amie Amina

Je ne trouve pas toujours les mots pour te remercier de l'amour que tu m'as témoigné au cours de ces années, des paroles d'encouragement que tu as su prononcer et du soutien extraordinaire que tu m'as offert.

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante de la flore marocaine, il s'agit du *Zizyphus lotus*(L). Dans une première partie de ce travail, nous avons caractérisé deux huiles extraites à partir des amandes des fruits du *Zizyphus lotus* ; l'une extraite par pression mécanique et l'autre par solvant organique. La caractérisation de ces huiles végétales a révélé la présence de l'acide oléique comme constituant majoritaire d'un taux de 66,8% et le total des acides gras insaturés est d'environ 84% dont les acides monoinsaturés représentent 69%. Le β -sitostérol représente le stérol principal avec un taux de 71%. L'analyse par HPLC des tocophérols de l'huile du *Zizyphus lotus* a montré l'existence du γ -tocophérol comme composant majoritaire avec un taux de 91,39 % à 100%.

L'évaluation de la capacité antioxydante in vitro par deux méthodes colorimétriques (DPPH et FRAP) a révélé que les deux extraits éthanoliques du *Zizyphus lotus* (amandes et pulpe des fruits) ont une activité antioxydante modérée, et la quantification des composés phénoliques totaux a montré que l'extrait éthanoliques de la pulpe renferme une teneur en flavonoïdes de (3,62 mg EQ/g MS) plus importante que celle contenue dans l'extrait EEA des amandes (2,11mgEQ/g MS). Le taux de polyphénols est 3,32 mg EAG/g MS pour la pulpe est supérieure trois fois à celui des amandes (1,39 mg EAG/g MS). Par ailleurs, la détermination du pouvoir antibactérien à partir des extraits du *Zizyphus lotus* sur les microorganismes testés a montré que leur efficacité dépend de la nature de l'extrait ainsi que la souche bactérienne testée. Et les CMI sont aux alentours de 50 à 100 mg/mL.

Une deuxième partie de ce travail consistait à la détermination de la valeur nutritionnelle de la pulpe et des amandes des fruits du *Zizyphus lotus*. Cette étude a montré qu'elles contiennent des quantités appréciables en nutriments. L'analyse par ICP a montré que ces deux

parties sont riches en minéraux notamment en calcium, magnésium et potassium. L'étude de la composition des amandes a révélé la présence de la matière grasse environ 29,95% et une teneur en sucre totaux de l'ordre de 1,2% largement inférieure à celle détectée dans la pulpe (24,8%). Les deux parties du fruit contiennent des valeurs modérées en vitamine A et C, par conséquent cette composition répond aux besoins journaliers en ces nutriments. La richesse des fruits du *Zizyphus lotus* par ces éléments nutritifs essentiels nous a permis d'intégrer la poudre dans la formulation de divers produits alimentaires.

La composition de l'huile des amandes de *Zizyphus lotus* en acides gras insaturés et polyphénols, stérols en tocophérols et en Vitamine A et C nous a conduit de l'intégrer dans la formulation des crèmes hydratantes comme matière grasse.

Mots clés : acides gras insaturés, activité antibactérienne, activité antioxydante, formulation, huile végétale, stérols, tocophérols.

Abstract

This study is part of the promotion of a plant of Moroccan flora, it is *Zizyphus lotus* (L). In the first part of this work, we characterized two oils extracted from the kernels of the fruit of *Zizyphus lotus*; one extracted by mechanical pressure and the other by organic solvent. The characterization of these vegetable oils revealed the presence of oleic acid as the major constituent at a rate of 66.8% and the total of unsaturated fatty acids is about 84% of which monounsaturated acids represent 69%. β -sitosterol represents the main sterol with a rate of 71%. HPLC analysis of the tocopherols in *Zizyphus lotus* oil showed the existence of γ -tocopherol as the major component with a level of 91.39% to 100%.

The evaluation of the antioxidant capacity in vitro by two colorimetric methods (DPPH and FRAP) revealed that the two ethanolic extracts of *Zizyphus lotus* (almonds and fruit pulp) have moderate antioxidant activity, and the quantification of total phenolic compounds has shown that the ethanolic extract of the pulp contains a flavonoid content of (3.62 mg EQ / g DM) greater than that contained in the EEA extract of almonds (2.11 mg EQ / g DM). The rate of polyphenols is 3.32 mg EAG / g MS for the pulp is three times higher than that of almonds (1.39 mg EAG / g MS). In addition, the determination of the antibacterial power from the extracts of *Zizyphus lotus* on the microorganisms tested showed that their effectiveness depends on the nature of the extract as well as the bacterial strain tested. And the MICs are around 50 to 100 mg / mL.

A second part of this work consisted in determining the nutritional value of the pulp and kernels of the *Zizyphus lotus* fruit. This study has shown that they contain significant amounts of nutrients. ICP analysis showed that these two parts are rich in minerals, especially calcium, magnesium and potassium. The study of the composition of the almonds revealed the presence

of fat about 29.95% and a total sugar content of about 1.2% much lower than that detected in the pulp (24.8%). Both parts of the fruit contain moderate values of vitamin A and C, therefore this composition meets the daily requirement for these nutrients. The richness of the fruit by these essential nutrients has allowed us to integrate it in the formulation of various food products.

The composition of the oil of *Zizyphus lotus* almonds in unsaturated fatty acids and polyphenols, sterols in tocopherols and in Vitamin A and C led us to include it in the formulation of moisturizers as a fat.

Key words: unsaturated fatty acids, antibacterial activity, antioxidant activity, formulation, vegetable oil, sterols, tocopherols.

ملخص

تدخل هذه الدراسة في إطار تثمين نبتة مغربية، وهي نبات السدر. في الجزء الأول من هذا العمل، قمنا بدراسة وتمييز نوعين من الزيوت المستخرجة من حبات فاكهة السدر؛ أحدهما يستخرج بالضغط الميكانيكي والآخر بمذيب عضوي. وكشف توصيف هذه الزيوت النباتية عن وجود حمض الأوليك كمكون رئيسي بنسبة 66.8% ومجموع الأحماض الدهنية غير المشبعة حوالي 84% منها الأحماض الأحادية غير المشبعة بنسبة 69%. وبينت دراسة السستيرول وجود B سيتوستيرول كمكون رئيسي بنسبة 71%. كما أظهر التحليل بتقنية كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء (HPLC) للتوكوفيرول في زيت نبات السدر وجود غاما توكوفيرول كمكون رئيسي بنسبة تتراوح من 91.39% إلى 100%. أظهر تقييم القدرة المضادة للأكسدة في المختبر بطريقتين قياس الألوان (2،2-ثنائي فينيل-1 بيكريل هيدرازيل ومقايسة الاختزال الحديدي / الطاقة المضادة للأكسدة (FRAP) أن المستخلصين الإيثانوليين من نبات السدر (اللوز ولب الفاكهة) لهما نشاط مضاد للأكسدة معتدل، وقد أظهر القياس الكمي للمركبات الفينولية الكلية أن المستخلص الإيثانولي للنبات يحتوي على محتوى فلافونويد (3.62 ملغ ما يعادل كيرسيتين/ جم مادة جافة) أكبر من ذلك الموجود في مستخلص الإيثانول من اللوز (2.11 ملغ ما يعادل كيرسيتين/ جم مادة جافة). معدل البوليفينول هو 3.32 مجم مكافئ حمض الغاليك/ جم مادة جافة للنبات أعلى بثلاث مرات من معدل اللوز (1.39 مجم مكافئ حمض الغاليك/ غرام المادة الجافة). بالإضافة إلى ذلك، أظهر تحديد القوة المضادة للبكتيريا من مستخلصات نبات فاكهة السدر على الكائنات الحية الدقيقة المختبرة أن فعاليتها تعتمد على طبيعة المستخلص وكذلك السلالة البكتيرية المختبرة. والحد الأدنى للتركيز حوالي 50 إلى 100 ملغ / مل.

الجزء الثاني من هذا العمل يتألف من تحديد القيمة الغذائية لحبوب فاكهة النبق. أظهرت هذه الدراسة أنها تحتوي على كميات كبيرة من العناصر الغذائية. أظهر تحليل تقنية قياس طيف البلازما المقترنة بالحث أن هذين الجزأين غنيان بالمعادن، وخاصة الكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم. كما بينت دراسة تركيب اللوز وجود دهون بحوالي 29.95% ومحتوى السكريات إجمالي بحوالي 1.2% أقل بكثير من تلك الموجودة في اللوز (24.8%). يحتوي كلا الجزأين من الفاكهة على قيم معتدلة من فيتامين أ وفيتامين سي، وبالتالي فإن هذه التركيبة تلبي المتطلبات اليومية لهذه العناصر الغذائية. يمكن تكوين زيت بذور فاكهة لنبات السدر من الأحماض الدهنية غير المشبعة والبوليفينول والسستيرولات في فيتامين أ وسي إلى دمج في تركيبة المرطبات كدهن.

الكلمات المفتاحية: الأحماض الدهنية غير المشبعة، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، الزيوت

السستيرولات، التوكوفيرول النباتية، صياغة

Liste des figures

Figure 1. Rameaux du Zizyphus lotus.....	8
Figure 2. Fruit du Zizyphus lotus	8
Figure 3. Diagramme représentant la composition d'une huile végétale	21
Figure 4. Nomenclatures des acides gras	22
Figure 5. Structure chimique des triglycérides.....	25
Figure 6 . Structure de l'acide gallique.....	39
Figure 7 . Structure chimique des flavonoïdes.....	40
Figure 8 . Structures chimiques des tocophérols.....	42
Figure 9 . Structures chimiques des tocotriénols.....	42
Figure 10 . Le radical DPPH• et sa forme réduite.....	45
Figure 11 . Principales formes galéniques des produits cosmétiques	55
Figure 12 . Schéma représentatif des émulsions simples H/E/H et E/H/E.....	56
Figure 13 . Schéma de séparation des phases dans une émulsion.....	57
Figure 14. Schéma d'un tensioactif.....	57
Figure 15. Représentation des différentes parties du fruits du Zizyphus lotus	61
Figure 16. Procédé d'extraction de l'huile de Zizyphus lotus par décoction.....	63
Figure 17. Montage d'extraction par soxhlet.....	64
Figure 18. Schéma du procédé d'extraction de l'huile par pression	65
Figure 19. Extracteur électrique d'huile « OLEUM »	65
Figure 20 . Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	76
Figure 21 . Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes.....	77
Figure 22 . Appareil ICP-AES	81
Figure 23. Chromatogramme des principaux acides gras de l'huile de Zizyphus lotus obtenue pression mécanique.....	97

Figure 24. Chromatogramme des tocophérols de l'huile des amandes du Zizyphus lotus obtenue par pression mécanique	101
Figure 25. Chromatogramme des tocophérols de l'huile des amandes du Zizyphus lotus obtenue par soxhlet.....	101
Figure 26. Cinétique de réduction du DPPH°	108
Figure 27. Valeurs de IC50 des extraits testés	109
Figure 28. TC50 de l'extrait EEP, EEA de Zizyphus lotus et de l'acide ascorbique.	109
Figure 29 . Activité antioxydante des EEP, EEA et de l'acide ascorbique déterminée par la méthode FRAP	110
Figure 30. Rendements moyens des extraits de la pulpe, des amandes et des feuilles du Zizyphus lotus	117
Figure 31. Cliché de l'huile des amandes du Zizyphus lotus.....	123
Figure 32. Fruit du Zizyphus lotus utilisé dans la formulation	126
Figure 33 . Broyeur électrique utilisé pour l'obtention de la poudre du fruit du Zizyphus lotus	127
Figure 34. Préparation de la poudre du fruit du Zizyphus lotus.....	127

Liste des tableaux

Tableau I. Description botanique de la plante <i>Zizyphus lotus</i>	8
Tableau II. Composition en acides gras de l'extrait méthanolique du fruit du <i>Zizyphus lotus</i> ⁴⁸	10
Tableau III . Composition des différentes parties du <i>Zizyphus lotus</i>	11
Tableau IV . Principaux minéraux dans les feuilles du <i>Zizyphus lotus</i>	11
Tableau V. Principales activités bioactives de <i>Zizyphus. Lotus</i> dans différents modèles expérimentaux	12
Tableau VI. Valeur nutritionnelle de quelques espèces du genre <i>Zizyphus</i>	15
Tableau VII. Les principales graines et fruits oléagineux.....	17
Tableau VIII . Acides gras saturés et insaturés les plus connus.....	24
Tableau IX. Composition moyenne en acides gras des huiles les plus connues	25
Tableau X . Les structures des principales méthyl stérols	26
Tableau XI. Composition des huiles végétales de quelque espèce du genre <i>Zizyphus</i>	28
Tableau XII . Classement des huiles végétales selon leur indice d'iode.....	30
Tableau XIII . Point de fumée de quelques huiles végétales raffinées.	31
Tableau XIV. Espèces réactives de l'oxygène	33
Tableau XV . Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes.....	38
Tableau XVI . Principales sous classes des flavonoides.....	40
Tableau XVII. Classification des vitamines.....	41
Tableau XVIII : Méthodes de mesure de la capacité antioxydante (CA) in vitro.....	44
Tableau XIX. Valeur de HLB après mélange du tensioactif dans l'eau.....	58
Tableau XX. Caractéristiques morphologiques du fruit du <i>Zizyphus lotus</i>	93
Tableau XXI. Taux de matière sèche des amandes et de la pulpe du <i>Zizyphus lotus</i> ..	93
Tableau XXII. La teneur en matière minérale et de matière organique (MO) des deux parties du fruit de <i>Zizyphus lotus</i>	94

Tableau XXIII. Rendement de l'huile du Zizyphus lotus par différents modes d'extraction.....	94
Tableau XXIV. Paramètres physico-chimiques de l'huile des amandes de Zizyphus lotus obtenue par pression à froid	95
Tableau XXV . Composition en acides gras des huiles des amandes de Zizyphus lotus (obtenue par pression mécanique et par solvant)	98
Tableau XXVI. Composition en acides gras majoritaires de l'huile du Zizyphus lotus de différentes régions	99
Tableau XXVII. Composition en tocophérols de l'huile du Zizyphus lotus obtenue par soxlhet et par pression mécanique.....	102
Tableau XXVIII. Composition en stérols totaux de l'huile des amandes du Zizyphus lotus	103
Tableau XXIX. Teneur en polyphénols dans les extraits du Zizyphus lotus	105
Tableau XXX. Teneur en flavonoïdes dans les extraits du Zizyphus lotus	105
Tableau XXXI . Pourcentage d'inhibition des extraits EEP et EEA du Zizyphus lotus	108
Tableau XXXII. Paramètres de calcul et classement de l'activité antioxydante de différents extraits.....	110
Tableau XXXIII. La teneur en matière minérale et de matière organique (MO) des deux parties du fruit de Zizyphus lotus	112
Tableau XXXIV. Composition minérale des amandes et de la pulpe du Zizyphus lotus	112
Tableau XXXV. Teneur en matière grasse dans les fruits du Zizyphus lotus	113
Tableau XXXVI. Sucres contenus dans les amandes du Zizyphus lotus.....	114
Tableau XXXVII. Distribution de la provitamine A dans le fruit du Zizyphus lotus	115
Tableau XXXVIII. Teneur en vitamine C dans le fruit du Zizyphus lotus	115
Tableau XXXIX. Normes utilisées pour lecture d'antibiogramme sur des extraits de végétaux	118

Tableau XL. Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés et sensibilité des souches	119
Tableau XLI. Diamètres des zones d'inhibition (mm) et sensibilité des souches microbiennes envers des antibiotiques de référence commercial	120
Tableau XLII. Concentrations minimales inhibitrices des extraits du Zizyphus lotus	121
Tableau XLIII. Composition de la crème à base de l'huile du Zizyphus lotus.....	123
Tableau XLIV. suivi de quelques paramètres de stabilité de la crème formulée.....	124
Tableau XLV: Composition de la poudre du fruit du Zizyphus lotus.....	128
Tableau XLVI. Ingrédients de la formulation d'un produit alimentaire à base de la poudre des fruits du Zizyphus lotus	129
Tableau XLVII. Ingrédients de la formulation de "Zammeta" à base de la poudre des fruits du Zizyphus lotus.....	130
Tableau XLVIII. Principaux composants d'une galette à base de la poudre du Zizyphus lotus	130
Tableau XLIX. Ingrédients de la pâte des crêpes à base de la poudre du Zizyphus lotus	131

Liste des abréviations

Abréviation	Description	Abréviation	Description
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)	HBPF	Huile Bio Obtenue Par Pression Mécanique À Froid
AGMI	Acides gras monoinsaturés	IC50	Concentration Inhibitrice à 50 %
AGPI	Acides gras polyinsaturés	ICPC	L'Indice d'irritation Cutanée Primaire pour Les Crèmes
AGS	Acides gras saturés	IUBCBN	International Union of Biochemistry Commission on Biochemical Nomenclature, 1968
BHT	Butyl hydroxy toluene	IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
CA	Capacité antioxydante	MAE	Microwave Assisted Extraction
CMI	Concentration minimale inhibitrice	MF	Matière fraîche
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse	MMT	Matière Minérale Totale
DMSO	Diméthylsulfoxyde	MO	Matière Organique
DPPH	1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle.	MS	Matière sèche
EAG	Équivalent d'acide gallique	ppm	Partie par million
EAU	Extraction assistée par ultrasons	Rdt	Rendement
EEA	Extrait éthanolique des amandes	ROS	Reactive Oxygen Species
EEP	Extrait éthanolique de la pulpe	SM	Spéctroscopie De Masse
EPP	Extrait de pépin de pamplemousse	SOD	Superoxyde dismutase
EQ	Équivalente quercétine.	HSH	Huile extraite au moyen du Soxhlet par Hexane
ERO	(Espèces Réactives de l'Oxygène)	FRAP	Ferric- reducing antioxidant power

Table des matières

PARTIE I: ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE 1. GÉNÉRALITÉS SUR LE GENRE ZIZYPHUS	5
1. INTRODUCTION.....	5
2. LE GENRE ZIZYPHUS.....	5
3. LES ESPÈCES DU ZIZYPHUS	6
3.1. ZIZYPHUS JUJUBA MILL	6
3.2. ZIZYPHUS MAURITIANA LAM	6
3.3. ZIZYPHUS OXYPHYLLA EDGEW.....	6
3.4. ZIZYPHUS RUGOSE LAM.....	6
3.5. ZIZYPHUS SPINA-CHRISTI.....	6
3.6. ZIZYPHUS SATIVA	7
3.7. ZIZYPHUS CELATA	7
3.8. ZIZYPHUS NUMMULARIA	7
3.9. ZIZYPHUS LOTUS (L.) DESF :.....	7
3.9.1. Description botanique du Zizyphus lotus	7
3.9.2. Classification	8
3.9.3. Répartition géographique	9
3.9.4. Utilisations traditionnelles du Zizyphus lotus (L.) Desf.....	9
3.9.5. Composition chimique et qualité nutritionnelle du Zizyphus lotus.....	9
3.9.6. Activités biologiques et thérapeutiques du Zizyphus lotus.....	11
3.9.7. Valeur nutritive du jujubier	14
CHAPITRE 2. : LES HUILES VÉGÉTALES	16
1. GÉNÉRALITÉS	16
2. LES GRAINES OLÉAGINEUSES	16
3. DÉFINITION DE QUELQUES HUILES DE CONSOMMATION HUMAINE	17
3.1. LES HUILES PRESSÉES À FROID	17
3.2. LES HUILES RAFFINÉES	17
4. TECHNIQUES D'EXTRACTION DES HUILES VÉGÉTALES.....	18
4.1. MACÉRATION :.....	18
4.2. SOXHLET	18

4.3.	EXTRACTION PAR FLUIDE SUPERCRITIQUE	19
4.4.	L'EXTRACTION PAR MICRO-ONDES	19
4.5.	EXTRACTION ASSISTÉE PAR ULTRASONS (EAU).....	20
4.6.	LA PRESSION MÉCANIQUE À LA PRESSE HYDRAULIQUE	20
4.7.	LA PRESSION MÉCANIQUE À L'EXPELLER (OU PRESSE À VIS SANS FIN)	20
5.	COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES VÉGÉTALES.....	20
5.1.	LES ACIDES GRAS.....	21
5.2.	LES TRIGLYCÉRIDES	25
5.3.	STÉROLS ET STÉROÏDES.....	25
5.4.	LES TOCOPHÉROLS	27
6.	COMPOSITION DES HUILES DE QUELQUES ESPÈCES DU GENRE ZIZYPHUS.....	27
7.	UTILISATION DES HUILES VÉGÉTALES.....	28
8.	CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES HUILES VÉGÉTALES.....	29
8.1.	INDICE DE SAPONIFICATION (IS).....	29
8.2.	INDICE D'ACIDE.....	29
8.3.	INDICE D'ESTER :.....	29
8.4.	INDICE D'IODE	29
8.5.	LA SICCATIVITÉ	30
8.6.	INDICE DE PEROXYDE	31
8.7.	INDICE DE FUMÉE.....	31
	CHAPITRE 3. : ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	32
1.	INTRODUCTION.....	32
2.	RADICAUX LIBRES.....	32
2.1.	FORMATION DES RADICAUX LIBRES	32
2.2.	RUPTURE HOMOLYTIQUE.....	32
2.3.	CAS PARTICULIER DE L'OXYGÈNE.....	33
2.4.	LES PRINCIPALES ESPÈCES RÉACTIVES DE L'OXYGÈNE :	33
2.4.1.	<i>Les ERO radicalaires</i>	34
2.4.1.1.	Radical superoxyde O_2^{\bullet}	34
2.4.1.2.	Radical perhydroxyle HO_2^{\bullet}	34
2.4.1.3.	Radical hydroxyle OH^{\bullet}	34
2.4.1.4.	Radical peroxyde RO_2^{\bullet}	34
2.4.2.	<i>Les ERO non radicalaires</i>	34
2.4.2.1.	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	34
2.4.2.2.	Les espèces réactives de l'azote	35

3.	LE STRESS OXYDANT	35
3.1.	ORIGINE DU STRESS OXYDANT	35
3.1.1.	<i>Source endogène (Phagocytose)</i>	35
3.1.2.	<i>Facteurs externes</i>	35
3.2.	EFFETS DU STRESS OXYDANT SUR L'ORGANISME	36
3.2.1.	<i>Altération des membranes lipidiques</i>	36
3.2.2.	<i>Cancers</i>	36
3.2.3.	<i>Diabète de type 2</i>	36
3.2.4.	<i>Maladies neurodégénératives</i>	37
4.	LES ANTIOXYDANTS.....	37
4.1.	LES SOURCES D'ANTIOXYDANTS ENDOGÈNES.....	37
4.1.1.	<i>Superoxyde dismutases</i>	37
4.1.2.	<i>Catalases</i>	37
4.2.	LES ANTIOXYDANTS EXOGÈNES.....	38
4.2.1.	<i>Les polyphénols</i>	38
4.2.1.1.	Les acides-phénoliques.....	39
4.2.1.2.	Les stilbènes	39
4.2.1.3.	Les lignanes	40
4.2.1.4.	Les flavonoïdes	40
4.2.2.	<i>Les vitamines</i>	41
4.2.2.1.	Vitamine E	41
4.2.2.2.	Vitamine C ou acide L-ascorbique	43
4.2.3.	<i>Caroténoïdes</i>	43
4.2.4.	<i>Les oligoéléments</i>	43
5.	MÉTHODES DE DOSAGE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	43
5.1.	MÉTHODES UTILISANT LES MÉCANISMES DE TRANSFERT D'ÉLECTRON (SET)	44
5.1.1.	<i>TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) avec ABTS</i>	44
5.1.2.	<i>Présentation de la méthode DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)</i>	45
5.1.3.	<i>Le Test FRAP (Ferric reducing antioxidant power)</i>	46
5.2.	MÉTHODES UTILISANT LES MÉCANISMES DE TRANSFERT D'HYDROGÈNE (HAT)	46
5.2.1.	<i>Les méthodes ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)</i>	46
CHAPITRE 4. : ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE.....		47
1.	INTRODUCTION.....	47
2.	L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE.....	47
2.1.	CULTURE DES BACTÉRIES	47

2.2.	LES ANTIBIOTIQUES	47
2.3.	CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES	48
2.4.	MÉCANISMES DE RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES	48
2.5.	DESCRIPTION DES MICRO-ORGANISME ÉTUDIÉS.....	48
2.5.1.	<i>Bactéries à gram négatif</i>	48
2.5.1.1.	Escherichia coli	48
2.5.1.2.	Pseudomonas aeriginosa.....	49
2.5.2.	<i>Bactéries à Gram positif</i>	49
2.5.3.	<i>Levure : Candida albican</i>	49
2.6.	MÉTHODE D'ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE ET ANTIFONGIQUE.....	50
2.6.1.	<i>Technique en milieu solide</i>	50
2.6.1.1.	Technique de diffusion en puits :	50
2.6.1.2.	Méthode de la diffusion en disque.....	50
2.6.2.	<i>Technique en milieu liquide (méthode de dilution)</i>	50
2.6.3.	<i>Concentration minimale inhibitrice (CMI)</i>	50
2.6.4.	<i>Concentration Minimale Bactéricide (CMB)</i>	50
CHAPITRE 5. : FORMULATION.....		51
1.	INTRODUCTION.....	51
2.	DÉFINITION DE LA FORMULATION	52
2.1.	INVENTION	53
2.2.	AMÉLIORATION	53
3.	DÉFINITION DU PRODUIT COSMÉTIQUE.....	53
4.	COMPOSITION D'UN PRODUIT COSMÉTIQUE.....	54
5.	CONSERVATION DES PRODUITS COSMÉTIQUES	54
5.1.	RÔLES DES CONSERVATEURS.....	54
6.	LES FORMES GALÉNIQUES	55
6.1.	DÉFINITION DES CRÈMES	56
6.1.1.	<i>Présentation des émulsions</i>	56
6.1.1.1.	Définition des émulsifiants.....	57
6.1.1.2.	Critères de choix des émulsifiants	58
PARTIE II: MATÉRIELS ET MÉTHODES		60
CHAPITRE 1. : ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES DES EXTRAITS DU ZIZYPHUS LOTUS.....		61
1.	MATÉRIEL VÉGÉTAL :	61
1.1.	CHOIX DU MATÉRIEL VÉGÉTAL.....	61

1.2.	LIEU DE LA RÉCOLTE.....	61
1.3.	SÉCHAGE DE LA MATIÈRE VÉGÉTALE	61
1.4.	BROYAGE	62
1.5.	CONCASSAGE	62
1.6.	BROYAGE DES AMANDES	62
1.7.	LE TAUX D'HUMIDITÉ :	62
2.	MÉTHODES	62
2.1.	EXTRACTION	62
2.1.1.	<i>Extraction des amandes par décoction</i>	63
2.1.2.	<i>Extraction par soxhlet</i>	63
2.1.3.	<i>Extraction par pression mécanique à froid</i>	64
3.	CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE DU ZIZYPHUS	
LOTUS	65	
3.1.	INTRODUCTION	65
3.2.	PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES DES HUILES VÉGÉTALES OBTENUES	66
3.2.1.	<i>Indice de réfraction</i> :	66
3.2.1.1.	Principe.....	66
3.2.1.2.	Le mode opératoire :	66
3.2.2.	<i>Indice de saponification</i> :	66
3.2.2.1.	Principe.....	66
3.2.3.	<i>Indice d'iode</i>	67
3.2.3.1.	Principe.....	67
3.2.3.2.	Mode opératoire	67
3.2.4.	<i>Indice d'acide</i>	68
3.2.4.1.	Principe.....	68
3.2.4.2.	Mode opératoire	68
3.2.5.	<i>Indice d'ester</i>	69
3.2.6.	<i>Indice de peroxyde</i>	69
3.2.6.1.	Principe.....	69
3.2.6.2.	Mode opératoire	69
3.2.6.3.	Expression des résultats	70
3.2.7.	<i>La densité</i>	70
3.2.7.1.	Principe.....	70
3.2.7.2.	Indice de fumée.....	70
3.2.7.3.	Mode opératoire	70
3.3.	ANALYSE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES DU ZIZYPHUS <i>LOTUS</i>	71
3.3.1.	<i>Détermination de la composition chimique en acides gras de l'huile des amandes du Zizyphus lotus</i>	71

3.3.1.1. Conditions opératoires de l'analyse des acides gras	71
3.3.2. Détermination de la teneur en insaponifiable de l'huile des amandes du <i>Zizyphus lotus</i> . 72	
3.3.2.1. Extraction	72
3.3.2.2. Dosage de l'insaponifiable.....	72
3.3.3. Détermination de la composition chimique en tocophérols.....	72
3.3.4. Détermination de la composition chimique en stérols totaux	73
3.3.4.1. Préparation de la fraction stérolique	73
3.3.4.2. CCM préparative de la fraction stérolique	73
3.3.4.3. Détermination de la composition en stérols	74

CHAPITRE 2. ANALYSE QUALITATIVE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES ET MÉTHODES D'ÉVALUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT DES EXTRAITS DU ZIZYPHUS LOTUS..... 75

1. INTRODUCTION.....	75
2. DOSAGE DES POLYPHÉNOLS TOTAUX ET FLAVONOÏDES	75
2.1. DOSAGE DES POLYPHÉNOLS.....	75
2.1.1. Mode opératoire	75
2.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES.....	76
3. EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DU ZIZYPHUS LOTUS.....	77
3.1. ETUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE PAR LA MÉTHODE DPPH.	77
3.1.1. Détermination du pourcentage d'inhibition.....	77
3.1.2. Détermination du temps d'équilibre TEC50	78
3.1.3. Détermination de l'efficacité anti-radicalaire EA.....	78
3.2. ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE PAR LA MÉTHODE FRAP	78

CHAPITRE 3. VALEUR NUTRITIONNELLE DES AMANDES ET DE LA PULPE DU ZIZYPHUS LOTUS..... 80

1. DOSAGE DE LA MATIÈRE MINÉRALE TOTALE	80
2. DOSAGE DES ÉLÉMENTS MINÉRAUX PAR SPECTROMÉTRIE À PLASMA À COUPLAGE INDUCTIF ICP 80	
3. DOSAGE DES SUCRES TOTAUX PAR HPLC	81
3.1. PRÉPARATION DES SOLUTIONS ÉTALONS	81
3.2. ANALYSE ET IDENTIFICATION	81
3.3. DOSAGE DES PROTÉINES	82
3.3.1. Digestion	82
3.3.2. Neutralisation et distillation	82
3.3.3. Titrage.....	82
3.3.4. Calcul du taux de protéines :	82

4. DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN CAROTÉNOÏDES DANS L'HUILE DU ZIZYPHUS LOTUS	83
5. DOSAGE DE LA PROVITAMINE A	83
6. DOSAGE DE LA VITAMINE C	84
CHAPITRE 4. ACTIVITÉ ANTI-MICROBIENNE.....	85
1. INTRODUCTION.....	85
2. PRÉPARATION DU MATÉRIEL VÉGÉTAL	85
3. PRÉPARATION DES SOLUTIONS.....	85
3.1. EXTRACTION	85
3.2. SOUCHES BACTÉRIENNES	86
3.3. ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE PAR LA MÉTHODE DE DIFFUSION PAR DISQUE	86
3.3.1. <i>Mode opératoire</i>	86
CHAPITRE 5. FORMULATION DES CRÈMES À PARTIR DE L'HUILE DU ZIZYPHUS LOTUS.....	88
1. OBJECTIF DE L'ÉTUDE	88
2. CADRE DE L'ÉTUDE :	88
3. LIMITES DE NOTRE ÉTUDE	88
4. MATIÈRES PREMIÈRES	88
4.1. MATÉRIELS :	88
5. MÉTHODOLOGIE	89
6. INGRÉDIENTS UTILISÉS :	89
7. MODE OPÉRATOIRE DE LA FORMULATION :	89
8. ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES CRÈMES.....	90
8.1. DÉTERMINATION DES CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES DE LA CRÈME	90
8.1.1. <i>Détermination de la couleur</i>	90
9. ÉTUDES DE STABILITÉ DES CRÈMES	90
9.1. TEST D'IRRITATION CUTANÉE	90
9.2. PROTOCOLE :	91
PARTIE III: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	92
CHAPITRE 1. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES HUILES DU ZIZYPHUS LOTUS.....	93
1. CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES DU FRUIT ET DES AMANDES DU ZIZYPHUS LOTUS....	93
2. CARACTÉRISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES AMANDES DU ZIZYPHUS LOTUS.....	93

2.1.	TAUX D'HUMIDITÉ.....	93
2.2.	CENDRES.....	94
3.	RENDEMENTS DES EXTRACTIONS DES HUILES OBTENUES À PARTIR DES AMANDES DU ZIZYPHUS	
LOTUS	94	
4.	CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES DES HUILES OBTENUES	94
4.1.	LA COULEUR	94
4.2.	LA SAVEUR	95
4.3.	L'ODEUR	95
4.4.	L'ASPECT.....	95
5.	DÉTERMINATION DES PARAMÈTRES PHYSICOCHIMIQUES DE L'HUILE HBPF	95
6.	COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES VÉGÉTALES DES AMANDES DU ZIZYPHUS LOTUS.....	97
6.1.	COMPOSITION EN ACIDES GRAS.....	97
6.2.	COMPARAISON DE LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES HUILES DU ZIZYPHUS LOTUS DE DIFFÉRENTES RÉGIONS	99
6.3.	COMPOSITION EN TOCOPHÉROLS	101
6.4.	COMPOSITION EN STÉROLS	103
	CHAPITRE 2. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DU ZIZYPHUS LOTUS	105
1.	DOSAGE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES TOTAUX	105
2.	DOSAGE DES COMPOSÉS FLAVONOÏDES TOTAUX	105
3.	ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	106
3.1.	CINÉTIQUE DE LA RÉACTION	106
3.2.	POURCENTAGE D'INHIBITION.....	108
3.3.	DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION D'INHIBITION IC50.....	109
3.4.	DÉTERMINATION DU TEMPS DE L'ÉQUILIBRE TC50	109
4.	TEST DE RÉDUCTION DU FER (FRAP)	110
	CHAPITRE 3. VALEUR NUTRITIONNELLE DES FRUITS DU ZIZYPHUS LOTUS.....	112
1.	TENEUR EN MATIÈRE MINÉRALE.....	112
2.	TENEUR EN ÉLÉMENTS MINÉRAUX	112
3.	DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN MATIÈRE GRASSE TOTALE	113
4.	TENEURS EN PROTÉINES TOTALES	114
5.	TENEUR EN SUCRES	114
6.	TENEUR EN CAROTÉNOÏDES	114

7.	TENEUR EN PROVITAMINE A	115
8.	TENEUR EN VITAMINE C	115
CHAPITRE 4. ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE.....		117
1.	INTRODUCTION.....	117
2.	RENDEMENTS DES EXTRAITS	117
3.	ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE	118
CHAPITRE 5. FORMULATION.....		123
1.	FORMULATION DE CRÈME HYDRATANTE À PARTIR DES AMANDES DU ZIZYPHUS LOTUS	123
1.1.	COMPOSITION DE LA CRÈME COSMÉTIQUE	123
1.2.	ANALYSE DE LA QUALITÉ DE LA CRÈME COSMÉTIQUE.....	124
1.2.1.	<i>Caractéristiques organoleptiques de la crème.....</i>	<i>124</i>
1.2.2.	<i>Etude de stabilité</i>	<i>124</i>
1.2.3.	<i>Test d'irritation cutanée.....</i>	<i>125</i>
2.	FORMULATION DES PRODUITS ALIMENTAIRES À BASE DE LA POUDRE DU FRUIT DU ZIZYPHUS LOTUS	125
2.1.	INTRODUCTION	125
2.2.	CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DES FRUITS UTILISÉS	125
2.3.	FORMULATION 1 : PRÉPARATION D'UN PRODUIT ALIMENTAIRE SANS GLUTEN.	126
2.3.1.	<i>Introduction</i>	<i>126</i>
2.3.2.	<i>Préparation de la poudre du Zizyphus lotus.....</i>	<i>126</i>
2.3.2.1.	<i>Examen organoleptique :</i>	<i>127</i>
2.3.3.	<i>Propriétés physico-chimiques de la poudre du Zizyphus lotus</i>	<i>128</i>
2.3.4.	<i>Formulation 1.....</i>	<i>129</i>
2.3.4.1.	<i>Composition</i>	<i>129</i>
2.4.	FORMULE 2 : PRÉPARATION DE ZAMMETTA (SOUS FORME DE PÂTE) SANS GLUTEN :	129
2.4.1.	<i>Composition :</i>	<i>129</i>
2.5.	FORMULE 3 : PRÉPARATION D'UNE GALETTE.....	130
2.5.1.	<i>Composition :</i>	<i>130</i>
2.6.	FORMULE 4 : PRÉPARATION DES CRÊPES (بغريير فرنسي) :	130
2.6.1.	<i>Composition :</i>	<i>130</i>
2.6.2.	<i>Procédé :</i>	<i>131</i>
3.	CONCLUSION.....	131

Introduction générale

L'incitation à la consommation induite par l'intérêt économique a généré la création des industries alimentaires et cosmétiques qui produisent une multitude de produits renferment dans leur formulation beaucoup de composés chimiques artificiels provoquant souvent des effets nocifs pour la santé et ayant comme résultat l'irritation, l'eczéma, le psoriasis, la leucémie du sang, les éruptions cutanées de la peau, le cancer et les maladies cardiovasculaires¹. Cela nuit à la santé ce qui suscite beaucoup de travaux de recherche sur les bienfaits de la médecine traditionnelle².

La place de l'utilisation des grains et des fruits oléagineux (arganier, olivier...) et leurs huiles dans la médecine traditionnelle est importante, et leurs propriétés bénéfiques sont connues depuis l'antiquité, elles nourrissent, protègent et hydratent la peau, en particulier les huiles riches en acides gras monoinsaturés comme l'acide oléique ω 9. C'est le cas de l'huile d'olive³ et l'huile de tournesol oléique sans oublier l'huile d'argan utilisée traditionnellement par les populations de la région d'Essaouira et qui est riche en acides gras essentiels et en tocophérols (vitamine E). Parfaite pour nourrir la peau et prévenir le dessèchement. Elle est anti-acné, anti-psoriasis, anti-rougeurs, contre le vieillissement et la chute de cheveux. Ces huiles s'utilisent comme une crème de soin et ne sont pas toxiques, elles ne possèdent aucun conservateur de synthèse et elles sont considérées efficaces que la plupart des cosmétiques de soin vendus. Contrairement aux crèmes hydratantes, les huiles végétales n'apportent pas d'eau à la peau, mais forment une couche grasse qui empêche cette eau de s'évaporer. Elles préservent le film hydrolipidique de la peau qui constitue une barrière défensive naturelle.

Des études récentes ont montré qu'une alimentation riche en acides gras monoinsaturés est liée à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires⁴. Les acides gras monoinsaturés possèdent le potentiel d'abaisser les taux de cholestérol total et de cholestérol-LDL (mauvais cholestérol) dans le sang, lorsqu'ils remplacent les acides gras saturés dans l'alimentation⁵. De plus, ils pourraient augmenter les taux de cholestérol-HDL (bon cholestérol) lorsqu'ils remplacent une partie des glucides de l'alimentation. Ils protégeraient aussi le cholestérol-LDL de l'oxydation⁵. Sans négliger l'importance des acides gras polyinsaturés⁶ dit essentiels, car le corps humain ne peut pas les synthétiser tout seul, ils doivent être apportés par l'alimentation en particulier des huiles végétales. L'acide linoléique est le seul acide gras essentiel de la famille des ω -6. Grâce à cet acide, le corps peut produire tous les autres lipides

de la famille des ω -6. L'acide linoléique est présent dans quasiment toutes les huiles végétales comme l'huile d'olive, l'huile de soja et l'huile de tournesol. Les acides gras polyinsaturés ω -6 ont un rôle bénéfique dans le traitement de l'hypercholestérolémie et celui des ω -3 dans le fonctionnement cérébral et du cœur⁷.

Les huiles végétales renferment une teneur élevée en tocophérols (vitamine E) antioxydants de l'huile, qui évite la formation des radicaux libres et, en conséquence, des plaques d'athérome. En abaissant l'agrégation plaquettaire, l'acide oléique de l'huile d'olive concourt lui aussi à prévenir et à réduire l'athéromatose (plus connue sous le nom d'artériosclérose)⁸.

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement. Le processus vital de ce dernier peut se caractériser par la production par le corps de radicaux libres. Ce sont des composés très réactifs et agressifs qui endommagent des composants cellulaires comme les protéines ou l'ADN. En plus, ces réactions sont cumulatives et se propagent en chaîne.

En effet, attaquées par les radicaux libres, les molécules corporelles se transforment à leur tour en radicaux libres. Les atteintes du vieillissement se multiplient alors. Or, la nature permet elle-même de combattre les effets du vieillissement. Les antioxydants contribuent à stopper ces processus dégénératifs dus aux radicaux libres et ont la possibilité de les capter, de les neutraliser et de réduire leur nocivité.

En plus de l'effet antioxydant contre les radicaux libres, les tocophérols^{9, 10} évitent l'agrégation des plaquettes responsables de thromboses. Elles protègent les globules rouges et agissent contre les maladies cardio-vasculaires.

Les huiles végétales aussi source de phytostérols qui agissent pour abaisser le taux de cholestérol. Ils empêchent l'absorption du cholestérol LDL¹¹ par les intestins et leur libération dans la circulation sanguine. Comme cela réduit la quantité de cholestérol LDL dans le sang, et le risque que les vaisseaux sanguins soient bloqués, diminue. L'un des phytostérols est le β -sitostérol, utilisé pour le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate¹².

Depuis des dizaines d'années, les recherches s'intéressent à développer de nouveaux produits naturels utiles dans le secteur alimentaire, cosmétique et médical en vue de remplacer certains produits de synthèse, parfois coûteux, toxiques ou devenus inefficaces à cause de la

résistance développée par certaines bactéries. Dès lors, des centaines de travaux ont été publiés visant la mise au point de nouvelles solutions en utilisant des huiles végétales bénéfiques¹³ que l'humanité a connues depuis son existence.

L'objectif de cette thèse porte principalement sur la valorisation du *Zizyphus lotus* de la région de Khouribga par l'étude de la composition chimique de nouvelles huiles végétales non conventionnelles¹⁴, obtenues à partir des amandes des graines du *Zizyphus lotus* qui sont non encore exploitées, avec un rendement convenable. L'étude de ces huiles concerne notamment la détermination de leurs proportions en acides gras, en tocophérols et en phytostérols d'une part et d'autre part par leur intégration dans la formulation des crèmes hydratantes. Et l'évaluation de l'activité antioxydante et l'effet antimicrobien de quelques extraits de la plante du *Zizyphus lotus*. La valorisation concerne également l'intégration de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus* dans la formulation de produits alimentaires.

Le présent travail de cette thèse est subdivisé en trois parties :

- La première partie est réservée à une étude bibliographique ;
- La deuxième partie est consacrée aux matériels et méthodes utilisés où nous avons présenté les modes opératoires de préparation des différents extraits et des détails sur les techniques d'évaluation des différentes activités ainsi que les conditions des différentes analyses effectuées.

- La troisième partie est réservée aux résultats et discussions, et elle est constituée de cinq chapitres :

1. Extraction et caractérisation des huiles extraites à partir des amandes du *Zizyphus lotus*.
2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques du *Zizyphus lotus*.
3. Valeur nutritionnelle du *Zizyphus lotus*.
4. Activité antimicrobienne des extraits de trois parties de la plante *Zizyphus lotus*.
5. Formulation des crèmes à partir des huiles du *Zizyphus lotus* et préparation des produits alimentaires à base de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus*.

Enfin, le présent manuscrit est couronné par une conclusion générale qui englobe l'ensemble des résultats obtenus ainsi que des perspectives.

Partie I: Étude bibliographique

Chapitre 1. Généralités sur le genre *Zizyphus*

1. Introduction

Depuis l'antiquité, l'Homme s'est servi des plantes non seulement en tant qu'aliment nutritif, mais également dans des préparations à des fins protectrices contre les maladies ou certaines pratiques spirituelles. De nos jours, l'utilisation des plantes s'accroît de plus en plus en tant que matière première pour différentes industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques bénéficiant des recherches qui s'investissent à découvrir de nouvelles molécules bioactives.

L'utilisation traditionnelle des plantes médicinales et cosmétiques continue à occuper une large place dans les pratiques thérapeutiques dans plusieurs régions telles que la Chine, l'Inde et certains pays africains comme le Maroc. Le climat diversifié de ce dernier lui procure une source importante en plantes médicinales et thérapeutiques cosmétiques dont certaines ne se développent que dans ce pays. La flore marocaine est exploitée par la population sous plusieurs formes d'infusions, de décoctions, de poudre ou par usage spirituel afin de lutter contre certaines maladies psychiques ou pour maintenir le bien être¹⁵. Parmi ces plantes du Maroc, on cite le *Zizyphus lotus* qui était introduit par des populations habitant dans l'Atlas en particulier comme additif alimentaire et comme traitement des infections urinaires, diarrhée, et lithiase¹⁶⁻¹⁸. À nos jours beaucoup de recherches ont montré que cette plante possède plusieurs activités thérapeutiques.

2. Le genre *Zizyphus*

Le mot *Zizyphus* est dérivé du nom arabe « zizouf » qui est le nom du fruit. Il regroupe plusieurs espèces qui sont de petits arbres ou arbustes, souvent pourvus d'épines, isolés ou groupés par deux, les feuilles sont petites, ovales, alternes, dentées ou non, glabres ou velues¹⁹. Certaines espèces poussent spontanément et d'autres sont cultivés comme dans la Chine, l'Inde et le Pakistan.

Il existe plusieurs appellations du *Zizyphus* selon la région où il pousse : en Chine il est appelé « Tsao » ; en Inde : Analo ou Anap ; dans l'Asie Centrale ; « Annab ou Ounabi » ; en Extrême-Orient : « Bes » ; les peuples arabes le nomment : Nabeg; et dans la région méditerranéenne, il est appelé « Jujubier »¹⁹.

Le genre *Zizyphus* est connu par sa résistance à la sécheresse. Il pousse dans la région de la méditerranée allant de la Libye jusqu'au Maroc et dans le Sud européen comme l'Espagne, la Grèce et la Sicile²⁰. Il existe environ 122 espèces de ce genre²¹ dont six sont natifs au Pakistan²².

3. Les espèces du *Zizyphus*

3.1. *Zizyphus jujuba* Mill

Cette espèce est nommée également le jujubier chinois ou dattes chinoise, elle est largement cultivée dans le sud-ouest de l'Europe, la Chine et le Moyen-Orient, dont la Chine représente le premier producteur de cette espèce d'environ 90 % de la production mondiale²³. Connu par ses multiples activités anti-inflammatoires et anti-cancérigènes. Le *Zizyphus jujuba* Mill est fréquemment utilisé contre les maladies infectieuses et l'hépatite chronique²⁴.

3.2. *Zizyphus mauritiana* Lam

Zizyphus jujuba ou *Zizyphus sativa* Gaertn, appelé également *Zizyphus vulgaris* ou jujube indien ; il comprend environ douze variétés réparties dans l'Inde, c'est un petit arbre feuillu qui se trouve dans le Pendjab, l'Himalaya, jusqu'à 2100 m d'altitude, vers l'Est du Bengale, le Baloutchistan, l'Iran et la région méditerranéenne²⁵. Occupe également la partie méridionale du Sahara central. Ses feuilles sont deux à trois fois plus grandes que celles du *Zizyphus lotus*²⁶. Ces racines contiennent des lanostanes de type triterpène, et terpène²⁵.

3.3. *Zizyphus oxyphylla* Edgew

Cette espèce est native au Pakistan²², c'est un arbre de petite à moyenne taille pouvant atteindre 12,2 m de haut²⁷, il est connu par ses propriétés antibactériennes, antifongiques, et insecticide²⁸. D'autres activités ont été évalués comme l'activité anti nociceptive et antipyrétique²⁷.

3.4. *Zizyphus rugose* Lam

C'est un grand arbuste, avec de grandes feuilles elliptiques, généralement sous-ordonnées, se trouve dans les forêts, à feuilles caduques et semi-vertes dans les Ghâts occidentaux²⁹.

3.5. *Zizyphus spina-christi*

Connu également sous le nom de « Sidr » c'est un arbuste qui pousse à l'état sauvage ; se caractérise par une écorce gris clair, des branches épineuses et souples pouvant atteindre une hauteur de dix mètres; facile à identifier par ses épines robustes, bicolores blancs et noir²⁶. Le

fruit est ovale, petit d'une couleur jaune orangé³⁰ il est répandu dans les régions tempérées et subtropicales, dans l'Afrique du Nord, le sud de l'Europe, l'Australie, l'Amérique tropicale et le Moyen-Orient³¹. Il existe plusieurs variétés de cette espèce : *Zizyphus spina Christi* ; *Zizyphus spina christi* sauvage, et *Zizyphus spina christi aucheri*³².

3.6. *Zizyphus sativa*

Nommé également le Jujubier commun, il est répandu dans une large partie de l'Asie subtropicale allant de la Méditerranée à l'Ouest à la Mongolie et la Chine subtropicale à l'Est¹⁹. Il a été découvert que ces extraits ont des activités antalgiques, antipyrétiques, bronchodilatatrices et antimicrobiennes³³.

3.7. *Zizyphus celata*

Cette espèce est répartie dans le Sud-Ouest et le nord d'Amérique³⁴.

3.8. *Zizyphus nummularia*

Arbuste à feuilles caduques, sa hauteur varie entre 1 à 3 m de haut ; il a de nombreuses branches, les feuilles sont alternes et ovoïdes³².

3.9. *Zizyphus lotus* (L.) Desf :

3.9.1. Description botanique du *Zizyphus lotus*

Le *Zizyphus lotus* (L.) Desf. appartient à la famille des Rhamnaceae, il est connu sous plusieurs appellations : Jujubier sauvage, jujubier de Berbérie, *lotus* des anciens, jujubier des Lotophages³⁵. Au Maroc il est réputé sous le nom de « Sedra ». Il est dans la classe des dicotylédones (Tableau I) qui renferme environ 900 espèces²¹ et qui comprend des arbres, des arbustes, des lianes ou des plantes herbacées^{36,37}. Le fruit de cette espèce est appelé « Nbag » d'une couleur marron quand il est mûr (Figure 2).

C'est un arbuste épineux (Figure 1) connu sous le nom de « Sedra »³⁸. Il est réparti dans la région méditerranéenne, le sud de l'Europe ; le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord³⁹. Il forme des touffes de quelques mètres de diamètre pouvant atteindre 2 m de haut⁴⁰. Ses feuilles sont caduques avec des tiges très ramifiées, elles sont petites, alternes, obtuses, crénelées, à trois nervures, glabres, faiblement rigides, de 7 à 9 mm de large et de 9 à 13 mm de long, à pétiole court³⁵. Les arbustes matures fleurissent en mai et juin et produisent des fruits en août⁴¹. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés. L'endocarpe est un mucilage sucré comestible appelé

"Nbag" ⁴². Il trouve plusieurs utilisations ; ses feuilles sont broutées par le bétail et constituent un bon fourrage pour les animaux⁴³.



Figure 1. Rameaux du *Zizyphus lotus*



Figure 2. Fruit du *Zizyphus lotus*

3.9.2. Classification

Le Tableau I présente la classification botanique de la plante *Zizyphus lotus*³⁵.

Tableau I. Description botanique de la plante *Zizyphus lotus*

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae

Genre	Zizyphus
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf.

3.9.3. Répartition géographique

Le jujubier est un arbrisseau qui croît lentement et commence à avoir des fruits vers l'âge de 4 ans qui peuvent continuer à paraître vers 20 à 25 ans²¹. Au Maroc il occupe les zones arides de Chaouia, l'Haouz, Zear, Rhamna, le Moyen Atlas, la région d'Errachidia, la zone côtière de Safi à sidi Ifni, la région de Khénifra, la région d'Oujda, le Souss, le Maroc Oriental et le Sahara³⁸.

3.9.4. Utilisations traditionnelles du *Zizyphus lotus* (L.) Desf.

Traditionnellement, la poudre des feuilles et des fruits a été utilisée comme un émollient et dans le traitement des furoncles⁴⁴, dans certains troubles intestinaux et des ulcères²⁰. Le fruit est aussi consommé comme antidiabétique, sédatif, contre certaines maladies respiratoires comme la bronchite et anti-diarrhée⁴⁵. Il trouve son usage également contre l'obésité, les troubles urinaires, des infections cutanées et l'insomnie³⁹. La poudre des graines du *Zizyphus* est employée contre plusieurs maladies. Elles sont antipyrétiques, toniques et antiviraux⁴⁶. De même, il a été utilisé contre les irritations broncho-pulmonaires⁴⁷. Le *Zizyphus lotus* constituait un aliment pour certaines tribus berbères du Maghreb³⁵. En période de famine, les nomades touaregs pilent les fruits avec leurs noyaux, puis ils les humectent d'un peu d'eau²⁶.

3.9.5. Composition chimique et qualité nutritionnelle du *Zizyphus lotus*

Des études menées sur la qualité nutritionnelle du jujubier ont montré que les fruits du *Zizyphus lotus* sont riches en minéraux, stérols, vitamines, tocophérols, fibres, et des acides aminés^{45, 48}, et contiennent une quantité importante en vitamine A et C supérieure aux autres parties du *Zizyphus lotus*⁴⁵. Des recherches ont montré que le fruit contient des acides gras notamment l'acide oléique et l'acide élaidique⁴⁸. Le Tableau II présente les principaux acides gras contenus dans les fruits du *Zizyphus lotus*.

Tableau II. Composition en acides gras de l'extrait méthanolique du fruit du *Zizyphus lotus*⁴⁸

Acides gras	Pourcentage
Acide laurique C12 :0	0,130 ± 0,0008
Acide myristique C14 :0	0,176 ± 0,005
Acide pentadecyclique C15:1	0,202 ± 0,0005
Acide Palmitique C16 :0	0,716 ± 0,0005
Acide Heptaguarique C17:1	0,727 ± 0,0007
Acide oleique C18:1	88,122 ± 0,0005
Acide Elaidique C18:1	7,882 ± 0,0006
Acide Linoleique C18:2	0,480 ± 0,001
Acide Alpha-linolenique C18:3	0,715 ± 0,0008
Acide Stearidonique C18 :4	0,240 ± 0,001
Acide Arachidique C20:0	0,178 ± 0,0007
Acide Behenique C22:0	0,116 ± 0,0003
Acide Erucique C22:1	0,316 ± 0,0007

Les amandes des fruits du *Zizyphus lotus* contiennent une quantité modérée en protéine, minéraux comme calcium, potassium et magnésium, fibres et vitamines^{45, 49, 50}, des acides gras insaturés notamment l'acide oléique et linoléique⁴⁶, des stérols comme β -sitostérols et des tocophérols.

L'analyse physicochimique des fruits du *Zizyphus lotus* a montré qu'il contient des molécules bioactives en particulier les polyphénols qui peuvent moduler la signalisation cellulaire et exercent des effets immunosuppresseurs sur les lymphocytes T humains³⁹. En effet, il a été déterminé que certaines parties de cet arbuste prévient la peroxydation lipidique^{51, 52}, il contient des carbohydrates^{51, 53, 54} de la vitamine E et riche en acide linoléique^{45, 46}. Les constituants les plus abondants sont présentés dans le Tableau III:

Tableau III . Composition des différentes parties du *Zizyphus lotus*

Famille des constituants	Constituant	Partie du <i>Zizyphus lotus</i>
Alcaloïdes ^{16, 53, 55, 56}	Alcaloïdes cylopeptidiques : lotusine A à F	Ecorces de la racine
	lotusanine A et B	Partie aérienne, feuilles
Polyphénols totaux Flavonoïdes Tanins ^{20, 48, 53, 56, 57}	-	Feuilles, Fruit
Terpènes, carbohydrates, Phytosterols, Saponines ; Protéines ^{53, 56}	-	Feuilles
Saponines ⁵⁸	jujuboside	

Les racines et la partie aérienne du *Zizyphus lotus* contiennent des alcaloïdes peptidiques^{55, 59, 60}, les feuilles sont riches en polyphénols, flavonoïdes et tanins plus que le fruit^{48, 56, 57, 61}, elles contiennent également des saponines ⁵⁸ et des flavonoïdes qui ont révélé un effet antiinflammatoire et analgésique⁴⁷. D'autres molécules bioactives ont été détectées dans les feuilles comme les acides aminés et les diterpènes.

Les éléments minéraux ont été également identifiés dans les feuilles⁵³ et ils sont résumés dans le Tableau IV :

Tableau IV . Principaux minéraux dans les feuilles du *Zizyphus lotus*

Élément	Quantité en ppm
Cd	0,2633 ± 0,1113
Cu	35,31 ± 1,51
Pb	1,78 ± 0,32
Fe	8,73 ± 0,29
Zn	69,18 ± 7,14
Mn	1,07 ± 0,07

3.9.6. Activités biologiques et thérapeutiques du *Zizyphus lotus*

Les propriétés thérapeutiques dépendent de la partie de la plante utilisée : racine, tige, écorce, feuille, fleur, pulpe ou grain ainsi que le solvant d'extraction utilisé⁶². Toutes les parties du jujubier ont des usages traditionnels qui remontent à des centaines d'années soit en nutrition ou en médication. Au Maghreb, il est utilisé pour ces propriétés

antidiabétiques⁶³⁻⁶⁵. Le fruit est utilisé contre certaines maladies gastriques et intestinales comme les ulcères et la diarrhée, les infections urinaires et cutanées, l'insomnie^{20, 66}, sa contenance en polyphénols et flavonoïdes lui confère des effets antioxydants et antibactériens⁶⁷⁻⁶⁹. D'autres activités du fruit ont été démontrées comme l'activité anti-inflammatoire et analgésique^{50, 70} antidiabétique et protecteur dermatologique⁶³ antibactérienne et antifongique^{48, 64, 68, 71} et antioxydant^{48, 54, 61-63, 72, 73}. Une étude a montré que les feuilles ont une activité antioxydante et antibactérienne⁷² et un effet litholytique⁵⁷. D'autres effets ont été attribués aux fruits du *Zizyphus lotus* comme anti-âge et antitumoral^{74, 75}, mollusucidal⁷¹ et antiprolifératif⁷⁶ et anti-*Helicobacter pylori*²⁰.

Les extraits des racines sont utilisés pour le traitement de certaines maladies pulmonaires, des rhumatismes et de l'arthrite⁴⁹, ils ont également un effet antioxydant et antidiabétique⁶⁵. Des analyses récentes ont montré que les graines du *Zizyphus lotus* ont une activité antibactérienne et antioxydante⁶⁷. Le Tableau V résume les activités biologiques du *Zizyphus lotus*.

Tableau V. Principales activités bioactives de *Zizyphus lotus* dans différents modèles expérimentaux

Activités du <i>Zizyphus lotus</i>	Parties de la plante étudiée	Modèle expérimental
Antioxydante ^{56, 57, 62, 63, 67, 69}	Feuilles : extraits avec polarité croissante des solvants (hexane dichlorométhane et méthanol)	2,20-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic (ABTS) acid
	Extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux des amandes	2,20-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) FRAP
	Extraits d'acétone	
	Extraits d'hexane, de méthanol et de dichlorométhane des feuilles	
Antibactérienne ^{56, 67-69, 77-80}	Extrait méthanolique du fruit et des feuilles.	Bactérie Gram-negative: Escherichia coli ATCC, Salmonella typhimurium NCTC 6017, Aeromonas hydrophila EI ,
		Bactérie Gram-positive: Staphylococcus aureus ATCC 29213
	Les extraits d'éther, dichlorométhane, et du méthanol des fruits	Bactérie Gram-negative: Escherichia coli ATCC, Salmonella typhimurium NCTC 6017, Aeromonas hydrophila EI ,
		Bactérie Gram-positive: Staphylococcus aureus ATCC 29213

	Extraits aqueux et méthanolique de la poudre des racines	Helicobacter pylori, Citrobacter koserie, Enterococcus faecium, Staphylococcus saprophyticus, Proteus mirabilis, Tests in vitro sur les espèces bactériennes : Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhi, Enterococcus faecalis et Pseudomonas aeruginosa Enterobacter cloacae Enterococcus sp, Staphylococcus épidermes, et Acinetobacter sp.
	Extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux des amandes	Escherichia coli, P. aeruginosa, S.aureus, E. Faecalis,candida albican
Effet litholytique ⁵⁷	Extrait aqueux des feuilles	Effet de l'extrait aqueux sur le calcul de l'oxalate de calcium
Antiinflammatoire ^{47, 70, 76}	Huile des grains	Études in vivo chez les rats wistar
	Extrait méthanolique de la partie aérienne	Études in vivo chez les rats wistar
	Extraits aqueux et méthanolique de feuilles et écorce des racines	Inhibition de la dénaturation de l'albumin
Antidiabétique ⁶ 3, 65, 81	Extrait méthanolique des feuilles	Études in vivo chez les rats wistar
	Extraits aqueux de différentes parties du <i>Zizyphus lotus</i>	
Anti-ulcère ^{20 82}	Extrait méthanolique des fruits Extraits aqueux de l'écorce de la racine	
Anti-lithiasique ^{83 84}	Extraits aqueux des amandes et de la pulpe du fruit	Cristallisation de l'oxalate de calcium in vitro
anti_spasmodique ⁶⁶	Extraits aqueux et méthanoliques de l'écorce de racine	Duodénum isolé de rat
Inhibition de l'acetylcholinestérase ⁷⁶	Extrait éthanolique de la partie aérienne	-
Protection hépatique contre le carbon tétrachloride ⁸⁵	Extraits aqueux de fruits	Études in vivo chez les rats wistar
Analgésique ⁸⁶	Feuilles et écorce des racines	Etude in vivo chez les rats wistar
		Les souris albinos suisses.
Immunosuppressive ^{87 62}	Extraits des pulpes, des graines, des feuilles, des racines et des tiges	Études in vitro : cellules jurkat
Anti-proliférative ⁷⁶	Extrait éthanolique de la partie aérienne	Cellules k-562 et caco-2

D'autres activités sont attribuées aux différentes espèces du *Zizyphus*, le *Zizyphus sativa* a révélé une activité hypoglycémique et il est utilisé également contre les éruptions

cutanées⁸⁸. Les polysaccharides extraits du *Zizyphus jujube* ont montré un effet hépato protectif⁸⁹. L'étude des extraits du *Zizyphus spina christi* a montré qu'il a un effet antidiarrhique⁹⁰ et antidiabétique^{16, 17} et qu'il peut améliorer les troubles du cerveau et de la mémoire³⁰. Des études phytochimiques menées sur le *Zizyphus Jujuba* Mil et le *Zizyphus jujube* cultivé ont montré que leur composition en polysaccharides leur confère plusieurs effets biologiques : immunomodulateur, anti-tumeur, protecteur hépatique, hypoglycémique, des effets protecteurs gastro-intestinaux^{89, 91, 92}, le fruit du *Zizyphus jujube* contient des peptides antioxydants pouvant prévenir des réactions oxydatives⁹³.

3.9.7. Valeur nutritive du jujubier

Plusieurs travaux ont montré la valeur nutritive du genre *Zizyphus*, notamment en acide gras, sucres, vitamines et différents minéraux, le Tableau VI présente les principaux éléments contenus dans les fruits de quelques espèces du *Zizyphus*.

Tableau VI. Valeur nutritionnelle de quelques espèces du genre Zizyphus

Genre du Zizyphus	Partie du Zizyphus	Composant	Teneur	
<i>Zizyphus lotus</i> 48-50 94	Fruits	Sucres totaux	24,29%	
		Protéines	1,43%	
		Lipides	0,84%	
		Ca (mg/100g MS)	650,6	
		K (mg/100g MS)	607,40	
		Mg (mg/100g MS)	288,6	
		Mn (mg/100g MS)	1,24	
		Fe (mg/100g MS)	2,50	
		Acides gras	acide oléique	88,12 %
			acide élaidique	7,88 %
<i>Zizyphus jujuba</i> 93, 95	Pulpe	Sucres	Glucose	136,51%
			Sucrose	113,28%
			Fructose	18,6%
		Acides aminés :la proline	17,40 mol	
Fruits	Protéines, polyphénols			
<i>Zizyphus mauritiana</i> 96, 97	Fruit	Vitamine C (mg/100g)	15 à 43	
		P (mg/100g)	87,0 ± 0,1 à 148,0 ± 0,5	
		Mg (mg/100g)	83,0 à 150,0 ± 0,13	
		Carbohydate	79,5 à 83,2 ± 00 g	
		K (mg/100g)	1865.0 ± 1,3 à 2441,0 ± 1	
		Ca (mg/100g)	160,0 ± 0,3 à 254	
		Polyphénols, flavonoides		

Chapitre 2. : Les huiles végétales

1. Généralités

L'utilisation de l'huile remonte à des siècles ; les premières matières grasses utilisées par l'homme proviennent de la graisse fondue des animaux. L'usage premier de l'huile n'avait pas de destinations alimentaires, il servait de combustible pour l'éclairage. L'huile est une matière grasse ⁹⁸, onctueuse et épaisse, souvent liquide à température ambiante. Une huile végétale renferme en général plus de 99 % de lipides ⁹⁹, ni glucides, ni protides et très peu ou pas de cholestérol, le reste (1%) est représenté par les vitamines et des antioxydants liposolubles ¹⁰⁰.

On peut extraire de l'huile de plusieurs aliments : de céréales (maïs, canola), de noix et de graines (tournesol, amandes), de légumineuses (soya, arachide) et de fruits (olive, avocat, pépins de raisin).

2. Les graines oléagineuses

Les substances à partir desquelles sont produites des huiles sont soit des graines ou des amandes soit des fruits ¹⁰¹. En effet toutes les graines, tous les fruits et toutes les amandes contiennent de l'huile. Elles sont classées en trois grandes familles ¹⁰² :

- Les grains amylicés qui contiennent environ 70% des glucides ; ce sont les céréales comme l'avoine, le blé, le maïs, l'orge et le riz ...
- Les grains protéagineux : contiennent environ 50% de protéines ; ce sont celles connues sous le nom de légumineuses comme le pois chiche, la fève, le haricot et le soja...
- Les grains oléagineux, parmi lesquels on peut citer les grains de sésame, de lin ¹⁰³, de courge et de chia, viennent des plantes dicotylédones. Elles renferment environ 50% de lipides comme les graines de lin, de courge, de tournesol, de chia et de pavot...elles sont composées de lipides en particulier des acides gras essentiels ou acides gras polyinsaturés :(acide alpha linoléique) et des oméga 6(acide linoléique).

Les graines des plantes en général renferment de l'huile végétale de l'ordre de 5% à 35%. Les graines des plantes de Zizyphus renferment une quantité d'huile végétale de l'ordre de 29,25% ⁴⁶. Cette huile est extraite par une des méthodes conventionnelles. Le Tableau VII présente les principaux fruits et graines oléagineuses ¹⁰⁴.

Tableau VII. Les principales graines et fruits oléagineux

Nom commun	Nom botanique de la plante	Famille	Nom de la matière Première
Noix	Juglans régia	Juglandaceae	Noix
Tournesol	Heliantus annuus	Asteracées	Graine de tournesol
Colza	Brassica napus var oleifera, Metzg	Crucifères	Graine de colza
Coprah	Cocos nucifera	Palmiers	Amande de coprah
Olive	Oléa europaea	Oléaceae	Olive (mésocarpe)
Palme	Elaeis guineensis	Palmiers	Mésocarpe du fruit du palmier à huile
Soja	Glycine max (soja max)	Légumineuses	Graine de soja
Raisin	Vitis vinifera	Ampélidaceae	Pépin de raisin

3. Définition de quelques huiles de consommation humaine

Les huiles sont des denrées alimentaires composées essentiellement de glycérides d'acides gras exclusivement d'origine végétale ⁹⁹. Elles peuvent contenir en faible quantité d'autres lipides comme les phosphatides, des constituants insaponifiables et les acides gras libres naturellement présents dans la graisse ou l'huile. Les huiles se classent selon le mode de fabrication en huile vierge et huile raffinée ⁹⁸.

3.1. Les huiles pressées à froid

Sont les huiles vierges obtenues, sans modification de l'huile, uniquement par des procédés mécaniques, sans utilisation de procédés thermiques. Elles peuvent avoir été purifiées uniquement par lavage à l'eau, décantation, filtrage et centrifugation ⁹⁹.

3.2. Les huiles raffinées

Les huiles de cette catégorie sont obtenues par extraction suivie du raffinage qui a pour but l'élimination de substances indésirables contenues dans les huiles et les rendre plus stables. Il comprend plusieurs étapes : démulcination ; conditionnement acide ; neutralisation ; séchage ; décoloration et désodorisation à chaud ⁹⁸. D'autres classifications ont été attribuées aux huiles selon leur aspect :

- **Huiles végétales fluides** sont riches en acides gras polyinsaturés : huile d'arachide, de colza, de germes de maïs, de tournesol, de soja et d'olive ⁷.
- **Huiles végétales concrètes** (graisses) sont les plus stables : comme l'huile coprah (provenant de la noix de coco) et l'huile de palme.

4. Techniques d'extraction des huiles végétales

Différents modes d'extraction des huiles peuvent être utilisés. Des techniques s'appuyant sur l'utilisation des solvants organiques comme dans les industries, des méthodes classiques comme la presse mécanique. Récemment d'autres nouvelles techniques sont développées comme l'usage du CO₂ supercritique ou encore l'extraction assistée par ultrasons.

Parmi les méthodes utilisant les solvants organiques on peut citer : La macération et l'extraction par soxhlet.

4.1. Macération :

Cette technique est généralement utilisée pour l'extraction de certaines molécules actives comme les polyphénols, flavonoïdes et tanins ; elle consiste à placer dans un extracteur un solvant organique et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules actives. Son intérêt pour les huiles réside qu'elle ne nécessite pas des températures élevées pouvant influencer la qualité de l'huile extraite, facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d'autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h), puis une filtration de l'extrait suivi d'une évaporation qui induit une perte du solvant utilisé.

4.2. Soxhlet

La méthode d'extraction par soxhlet est utilisée dans les études de comparaison des modes d'extraction comme témoin. Elle est utilisée pour l'extraction des polyphénols à partir des fruits et des végétaux ¹⁰⁵. Son principe est basé sur l'échange entre la matière à extraire et le solvant pur. La matière, généralement une poudre, est placée dans une cartouche de cellulose, puis dans le corps d'extracteur, le solvant est placé dans le ballon. Lorsque le solvant est à ébullition, il s'évapore passant par le tube adducteur, se condense dans le réfrigérant et retombe dans la cartouche, faisant solubiliser la matière à extraire. Quand le corps d'extracteur est plein, le solvant retourne dans le ballon accompagné des substances à extraire. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. L'huile est recueillie après évaporation du solvant.

Cette méthode présente l'avantage d'être simple à mettre en place, ne nécessite pas une étape de filtration, peu coûteuse, permettant l'épuisement de la matière, néanmoins, elle nécessite un temps d'extraction long et une quantité importante de solvant. Cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultra-sons¹⁰⁶.

4.3. Extraction par fluide supercritique

Cette technique utilise le CO₂ dans des conditions de température et pression supercritique, respectivement 31-50°C et 74-330 bars. C'est une alternative de l'extraction par solvant ¹⁰⁷. Des études ont montré qu'une augmentation de la température et de la pression peuvent augmenter le rendement de l'huile obtenue ¹⁰¹.

Le dioxyde de carbone présente l'avantage de créer un environnement sans oxygène et donc éviter d'avoir des réactions d'oxydation, c'est un fluide non polaire ce qui limite la solubilité des composés polaires ¹⁰⁸. Généralement, il est utilisé avec des co-solvants polaires avec une faible concentration (3-5%) pour améliorer la solubilité des produits polaires. Les co-solvants utilisés sont : l'eau, le méthanol, l'éthanol, l'acétone. Un mélange méthanol- eau permet une bonne extraction des composés phénoliques par rapport aux autres solvants⁷⁵.

4.4. L'extraction par micro-ondes

Cette technique regroupe différents procédés parmi lesquels :

- L'extraction par solvant assistée par micro-ondes ou « MAE : microwave assisted extraction ».
- Hydrodistillation par microondes sous vide, « vacuum microwave hydrodistillation » VMHD ¹⁰⁶.

Son principe consiste en la propagation des radiations électromagnétiques dans le matériau, pour atteindre les molécules polaires présentes dans la matière d'extraction. Ces molécules génèrent de la chaleur qui chauffe le matériau à cœur. Les radiations se propagent sous forme de vagues avec des fréquences allant de 0,3 à 300 GHz¹⁰⁹. La pression élevée provoque la rupture des cellules, ce qui facilite la pénétration du solvant. L'EAM présente l'intérêt d'être une source d'énergie contrôlable de façon instantanée et réglable avec précision. Elle permet d'accélérer la cinétique d'extraction et de réduire le ratio solvant/charge, ce qui permet de préserver les composés les plus thermolabiles des réactions de dégradations traditionnelles ¹⁰⁹.

L'extraction assistée par microondes est influencée par plusieurs paramètres : la puissance des microondes, la fréquence, la température initiale, les propriétés diélectriques du matériau et le design de la microonde utilisé ; en effet une fréquence basse à une pénétration dans le matériel végétal meilleure à une fréquence élevée et par conséquent un rendement élevé de l'huile obtenue ¹¹⁰.

4.5. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

Cette technique présente l'intérêt de faire des extractions à température ambiante, 20-25°C et pour des durées très courtes de 3-30 min, ce qui permet de préserver les composés thermolabiles (acide gras, polyphénols), des colorants, des antioxydants, des arômes ou aussi des caroténoïdes ¹¹¹.

Son principe consiste à la destruction des parois cellulaires par des fréquences d'ultrasons, ce qui permet une meilleure pénétration du solvant au cœur de la matière, et par conséquent un meilleur rendement d'extraction ¹¹². Les fréquences utilisées sont généralement supérieures à 20 kHz. En milieu liquide, les ultrasons provoquent des cycles d'expansion et de compression des cellules formant ainsi des bulles. Le développement excessif des bulles microscopiques à proximité des parois cellulaires entraîne une élévation de température et de pression, ce qui provoque l'explosion des bulles et la destruction des parois cellulaires ¹⁰⁹.

4.6. La pression mécanique à la presse hydraulique

C'est une méthode ancienne et celle qui peut donner l'huile la plus proche de son état naturel. Les graines oléagineuses ou fruits sont broyés, puis pressés à froid ou légèrement chauffés avant d'être pressés. La pression s'effectue en deux étapes : une première phase à faible pression, suivie d'une étape de relaxation ensuite d'une seconde compression à pression plus élevée. Le travail créé par les presses hydrauliques est discontinu et nécessite des phases de manutention lourdes ¹¹³.

4.7. La pression mécanique à l'expeller (ou presse à vis sans fin)

Les matières sont d'abord chauffées à des températures variant de 90 °C à 120 °C, puis soumises à la pression. Le processus de compression s'effectue au cours de l'avancement de la matière dans une cage de presse par les actions conjuguées de la vis sans fin et d'un système d'obstruction, celui-ci freine la décharge du tourteau en sortie ¹¹⁴. L'huile obtenue est ensuite généralement raffinée, processus qui comprend de nombreuses étapes : filtration ou centrifugation, blanchissage, et désodorisation.

5. Composition chimique des huiles végétales

Une huile végétale renferme deux parties, une saponifiable comprend les acides gras saturés et insaturés qui sont les constituants majoritaires et d'autres composants (constituants mineurs) que l'on peut classer en grandes familles : phosphatides, cérides, et des constituants

insaponifiables contient les stérols, les tocophérols, les alcools, la glycérine, les caroténoïdes, les polyphénols et les flavonoïdes (Figure 3).

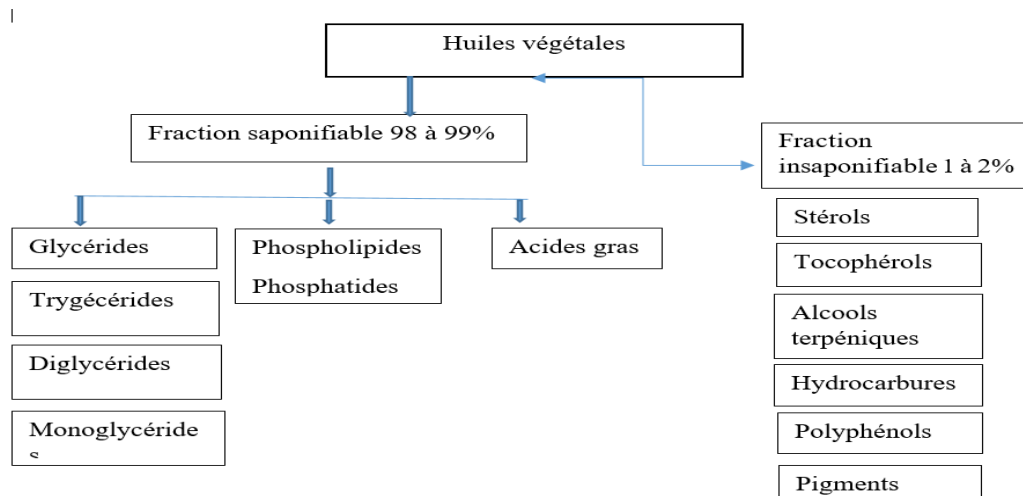


Figure 3. Diagramme représentant la composition d'une huile végétale

5.1. Les acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaînes aliphatiques hydrophobes ¹¹⁵. Différentes classifications sont faites :

1. Selon la longueur de la chaîne carbonée :

Les acides gras volatils (contenant 2 à 4 atomes de carbone), les acides gras à chaîne courte (6 à 10 atomes de carbone), les acides gras à chaîne moyenne (12 à 14 atomes de carbone) et les acides gras à chaîne longue (nombre d'atomes de carbones ≥ 16).

2. Les acides gras insaturés ou saturés :

Selon qu'ils contiennent de doubles liaisons ou non. Ils sont alors notés $C_n : m$, où n représente le nombre d'atomes de carbone et m , le nombre de doubles liaisons ¹¹⁴ : $C_{12} : 0$ acide laurique ou encore $C_{18} : 2$ acide linoléique

3. Les acides gras cis ou trans, selon la position et la structure spatiale des doubles liaisons ¹¹⁶.

Deux types de nomenclature sont utilisés pour les acides gras : La nomenclature systématique issue des travaux communs de l'IUPAC et de l'IUBCBN qui recommande de déterminer le nombre d'atomes de carbone de la molécule en partant du carbone du groupement carboxyle toujours noté 1 et les autres carbones portant leur numéro d'ordre (Figure 4).

La deuxième nomenclature est celle utilisée par les nutritionnistes. Elle est désignée par le terme de « nomenclature oméga » et permet de regrouper les acides insaturés en série ¹¹⁷. Dans ce cas, le carbone du groupement méthyle terminal (ω) est noté 1 et les positions des doubles liaisons sont comptées en tenant compte de leur numéro d'ordre, partant de cette position ω (Figure 4).

Nomenclature officielle : Carbone COOH en C1, chaîne linéaire la plus longue avec liaison éthylénique en position 9.

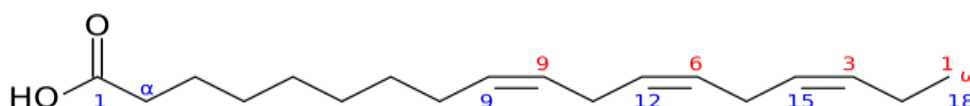


Figure 4. Nomenclatures des acides gras

Exemple de l'acide α -linoléique (nom courant d'acide (9Z,12Z,15Z) -octadéca-9,12,15-triénoïque ou acide C18 :3 ω -3 en nomenclature nutritionniste).

Les acides gras saturés les plus couramment rencontrés à l'état naturel sont l'acide laurique (C12 : 0), palmitique (C16 : 0) et stéarique (C18 : 0). Une des sources les plus riches d'acide laurique est l'huile de coprah (44 à 52 %) qui contient également 13 à 19 % d'acide myristique (C14 : 0) ¹¹⁸. L'acide palmitique est présent dans presque toutes les graisses

végétales et animales. Il est un constituant de l'huile de palmiste (44 %) et du beurre de cacao (25 %) ¹¹⁹. Enfin, l'acide stéarique est également largement retrouvé dans la plupart des huiles végétales qui en contiennent de 1 à 5 %, dans le beurre de cacao à 35 %.

De même, les acides gras insaturés peuvent être classés différemment. On distingue :

- Les acides gras monoinsaturés, à une seule double liaison dans leur structure carbonée. Plus de 100 AGMI ont été identifiés dans la nature, mais, les acides oléique (C18:1 ω -9) et palmitoléique (C16:1 ω -7) sont les plus représentés aussi bien dans les huiles végétales qu'animales (23%), de l'huile de palmiste (44 %) et du beurre de cacao (25 %) ¹¹⁶.

- Les acides gras polyinsaturés, à plus d'une double liaison dans leur structure carbonée. Les AGPI les plus importants dans les huiles végétales sont ceux à 18 (et plus) atomes de carbone. On peut citer comme exemples, les acides linoléiques (C18:2 (9,12)) et α -linoléique (C18:3 (9, 12, 15)) qui appartiennent respectivement à la série des ω -6 et ω -3.

Les huiles végétales se différencient les une des autres par une répartition différente entre acides gras saturés (AGS), acides gras mono-insaturés (AGMI), acides gras polyinsaturés de la

famille des oméga-6 et acides gras polyinsaturés de la famille des oméga-3 (AGPI ω 3). Selon leur profil en acides gras ⁹⁹, on peut les classer en :

- **Huiles oléiques** : dans cette catégorie, l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (AGMI) comme l'huile d'olive, de colza, d'arachide, de noisette. Cet acide a un rôle important vis-à-vis des marqueurs biologiques du risque cardiovasculaire.

- **Huiles linoléiques** : l'acide linoléique est l'acide gras majoritaire comme dans l'huile de maïs, l'huile de pépin, l'huile de raisin, l'huile de tournesol et l'huile de soja.

- **Huiles α -linoléiques** : dans ce type d'huile le pourcentage en acide α -linoléique (AGPI ω -3) est significatif (huile de colza, de noix, et de germe de blé) ou élevé (huile de lin) ⁹⁹. Les acides gras les plus connus ¹¹⁷sont présentés dans le Tableau VIII:

Tableau VIII . Acides gras saturés et insaturés les plus connus

Désignation simplifiée	Désignation commune	Désignation chimique
C 4 :0	Acide butyrique	Acide butanoïque
C 6:0	Acide caproïque	Acide hexanoïque
C 8:0	Acide caprylique	Acide octanoïque
C 10:0	Acide caprique	Acide décanoïque
C 12:0	Acide laurique	Acide dodécanoïque
C 14:0	Acide myristique	Acide tétradécanoïque
C 16:0	Acide palmitique	Acide hexadécanoïque
C 16:0 iso	Acide iso palmitique	Acide 14-méthyl pentadécanoïque
C 16:1 ω 7c	Acide palmitoléique	Acide cis-9-hexadécénoïque
C 17:0	Acide margarique	Acide heptadécanoïque
C 18:0	Acide stéarique	Acide octadécanoïque
C 18:0 iso	Acide iso stéarique	Acide 16-méthyl heptadécanoïque
C 18:1 ω 9	Acide oléique	Acide cis-9-
C 18:1 ω 9	Acide elaïdique	Acide trans-9-
C 18:2 ω 6	Acide linoléique	Acide 9,12-octadécadiénoïque
C 18:3 ω 3	Acide alpha-linolénique	Acide 9,12,15-octadécatriénoïque
C 20:0	Acide arachidique	Acide eicosanoïque
C 20:4 ω 6	Acide arachidonique	Acide 5,8,11,14-eicosatétraénoïque

Les compositions en acides gras principaux de certaines huiles végétales les plus courantes ¹⁰³ sont présentées dans le Tableau IX:

Tableau IX. Composition moyenne en acides gras des huiles les plus connues

Huiles végétales	C18:3 (%)	C18:2 (%)	C18:1 (%)	C18:0 (%)	C16:0 (%)
Huile de lin	48-58	13-18	17-22	4-7	5-7
Huile de soja	6-12	46-56	20-30	2-7	7-10
Huile de carthame	1	62-80	10-20	2-7	6-8
Huile d'œillette	0	65-80	20-25	2-5	4-8

5.2. Les triglycérides

Un triglycéride est un complexe constitué d'une molécule de glycérol estérifiée par trois molécules d'acides gras semblables ou différentes R-COOH ¹¹⁷. Ce sont des graisses de réserve, constituant un stock d'énergie à long terme, dans lequel l'organisme peut puiser en fonction de ses besoins. Ces réserves sont consommées préférentiellement lors des efforts physiques, ou pour lutter contre le froid, elles sont également une source d'éléments nutritifs essentiels ¹²⁰. La Figure 5 illustre la structure chimique des triglycérides.

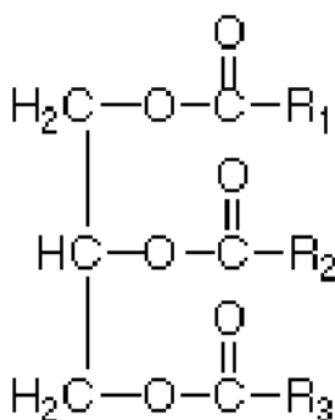


Figure 5. Structure chimique des triglycérides

5.3. Stérols et stéroïdes

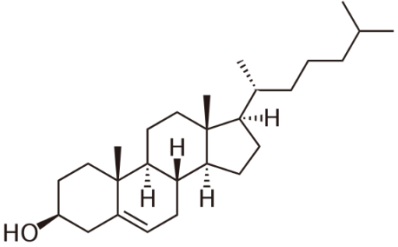
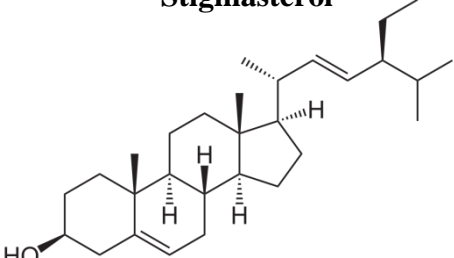
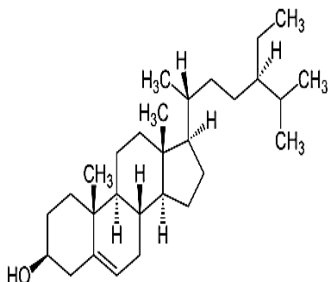
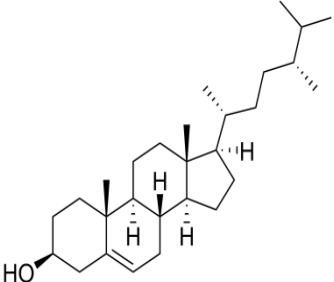
Les stéroïdes résultent de l'estérification des acides gras par des stérols. Leur squelette est un carbure tétracyclique : stérane (cyclopentanoperhydrophénanthrène), issu de la condensation du cyclopentane sur le phénanthrène. Ils diffèrent les uns des autres par la nature et la position des différents groupements portés par le noyau et la présence éventuelle de doubles liaisons, mais aussi par leurs actions biologiques spécifiques ^{121, 122} dans le végétal ils sont appelés «phytostérols» ¹¹⁷. On répartit les stéroïdes naturels en quatre séries :

- Les stérols.
- Les acides et sels biliaires.
- Les stéroïdes hormonaux.
- Les vitamines D et autres dérivés ¹¹⁶.
- Les stérols peuvent être classés en 4-desméthylsterols, 4 α -monométhyl stérols

et en 4,4- diméthylstérols. Les deux derniers sont les précurseurs des phytostérols et ils sont présents avec des quantités plus faibles que les 4-desméthyl-stérols. Selon la position et le nombre des doubles liaisons dans le noyau, les 4-desméthylstérols peuvent être classés en Δ^5 -stérols, Δ^7 -stérols, et en $\Delta^5,7$ -stérols ¹²².

Les structures des principales desméthylstérols rencontrés dans les huiles végétales sont présentées dans le Tableau X:

Tableau X . Les structures des principales méthyl stérols

<p style="text-align: center;">Cholestérol</p> 	<p style="text-align: center;">Stigmastérol</p> 
<p style="text-align: center;">β-sitostérol</p> 	<p style="text-align: center;">Campestérol</p> 

Plusieurs études ont montré que chaque huile végétale a une composition particulière en stérols. Ce qui a fait de la détermination de ces insaponifiables, un critère de détermination de l'adultération et d'authenticité de ces huiles ^{123, 124}. Et il a même été prouvé qu'on pouvait partir de la composition en stérols pour différencier les variétés de fruits d'olive ^{100, 125}.

5.4. Les tocophérols

Le terme « tocophérol » recouvre plusieurs composés (α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol et δ -tocophérol). Présents dans les huiles végétales alimentaires, ils assurent la protection vis-à-vis de l'oxydation (anti-oxygènes). Les tocophérols possèdent tous un groupement OH en position 6 et une chaîne latérale à 16 atomes de carbone dont 3 portent des ramifications méthyles CH₃ en position 2¹²⁶. Les formes α , β , γ et δ -tocophérols diffèrent entre elles par le nombre et la localisation de groupes méthyles en 5 et 7 fixés sur le noyau benzénique.

L'huile de palme est la seule qui contient de l' α -, le γ - et le δ -tocotriénols, mais en quantité faible.¹³² L'huile de tournesol ne renferme que de l' α -tocophérol, qui est aussi la forme prédominante dans l'huile d'olive. Le γ -tocophérols est le représentant majeur dans l'huile de noix et l'huile de maïs. L'huile de soja, quant à elle, contient surtout du γ -tocophérols et du δ -tocophérols. Ces molécules jouent un rôle dans la prévention contre certaines maladies cardiovasculaires^{127, 128}, et particulièrement l'athérosclérose. D'autres études montrent que les tocophérols ont certaines propriétés anticancéreuses telles que certains cancers¹²⁹(prostate, poumons, pancréas) et des maladies neurodégénératives (Alzheimer)¹³⁰.

6. Composition des huiles de quelques espèces du genre Zizyphus

L'extraction des substances chimiques obtenues à partir des différentes parties du Zizyphus a fait l'objet de nombreuses recherches. Des études menées sur le Zizyphus jujuba ont montré que l'huile obtenue à partir de la pulpe est de l'ordre de 8.31% à 12.35%⁹⁵, le Tableau XI présente la composition et le rendement des huiles de certaines espèces du Zizyphus.

Tableau XI. Composition des huiles végétales de quelque espèce du genre *Zizyphus*

Genre du <i>Zizyphus</i>	Rdt de l'huile (%)	Partie utilisée	Acides gras insaturés (%)	Composants		Pourcentage %			
<i>Zizyphus jujuba</i> ⁹⁵	8,31 à 12,35	Pulpe	62,63 à 72,40	Acides gras	Acide oléique C 18:1	32,37 à 50,68			
					Acide linoléique C 18:2	10,88 à 18,13			
					Acide palmitique C16:0	15,58 à 18,67			
				Stérols				β -sitosterol	3,02 à 10,65
								campestérol	1,37 à 2,4
								Stigmastérol	1,35 à 16,12
								d-7- Stigmastenol	0,82
<i>Zizyphus lotus</i> (Maroc) Région : Rhamna ⁴⁶	29,25	Grains	81,83	Acides gras	Acide oléique C 18:1	62,49			
					Acide linoléique C 18:2	16,00			
					Acide palmitique C16:0	10,27			
<i>Zizyphus lotus</i> (Tunisian jujube) ^{131 50}	32,92 à 34,28	Grains		Tocophérols β -Tocopherol		116,74 mg/100g 116,47 mg/100g			
				Acides gras	Acide oléique C 18:1	61,93 à 66,34%			
					Acide linoléique C 18:2	18,13 à 18,31 %			
					Acide palmitique C16:0	4,53 à 9,14%			
				Stérols				d_7-campestérol	147,82 mg/100g
								β -sitostérol	82,10 mg/100g

7. Utilisation des huiles végétales

Les corps gras sont des substances composées de molécules ayant des propriétés hydrophobes et sont majoritairement composés de triglycérides qui sont des esters issus d'une molécule de glycérol et de trois acides gras ⁹⁹ ; les principaux corps gras sont les huiles qui se

présentent à l'état liquide à température ambiante, et les graisses qui se présentent en état pâteux ou solide à température ambiante à cause de leur composition en acides gras saturés.

Les corps gras trouvent plusieurs utilisations, en effet les deux tiers de la production mondiale sont destinés à l'alimentation et le reste est pour usage industriel dans des produits cosmétiques et pharmaceutiques comme l'huile de palmiste est utilisé pour assurer le refroidissement et l'isolation des transformateurs de puissance ¹³².

8. Caractéristiques physico-chimiques des huiles végétales

8.1. Indice de saponification (IS)

L'indice de saponification (IS) d'un corps gras est le poids en milligramme de potasse (KOH) nécessaire pour saponifier les esters d'acides gras et neutraliser les acides gras non estérifiés dans un gramme de matière grasse. L'indice de saponification est lié aux autres indices, comme l'indice d'acidité (IA) et l'indice d'ester (IE), par la relation : $IS = IE + IA$.

8.2. Indice d'acide

Cet indice témoigne de la « fraîcheur » d'une huile et correspond à la masse d'hydroxyde de potassium (en milligramme) nécessaire à ajouter, pour un gramme d'huile, afin de neutraliser tous les acides gras libres dans la prise d'essai ¹⁰³. Il est déterminé par un dosage acide/base en retour. Le corps gras réagit avec un excès connu de potasse alcoolique selon la réaction suivante :

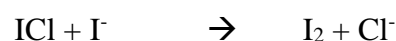


8.3. Indice d'ester :

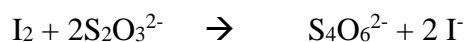
L'indice d'ester d'un lipide est la masse d'hydroxyde de potassium (KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire pour saponifier les acides gras estérifiés contenus dans un gramme de corps gras. L'indice d'ester est égal à l'indice de saponification pour les glycérides purs.

8.4. Indice d'iode

Il exprime le degré d'insaturation d'un corps gras. Il peut se déterminer par dosage des doubles liaisons par du diiode (I_2), et correspond alors à la masse de diiode (I_2), exprimée en gramme, fixée pour 100 g de corps gras. Le réactif de Wijs (ICl) est utilisé préférentiellement à I_2 . D'abord, l'iodure de chlorure ICl est introduit en excès et réagit sur les doubles liaisons, puis l'excès d'ICl est transformé en I_2 selon la réaction suivante :



Le diiode formé est alors dosé par le thiosulfate de potassium selon la réaction :



L'indice d'iode permet de classer les huiles végétales en trois catégories ¹⁰³, le Tableau XII présente cette classification :

Tableau XII . Classement des huiles végétales selon leur indice d'iode

Type d'huile	Indice d'iode
Siccative	> 150
Semi-siccative	110 à 150
Non siccative	0 à 110

Toutefois, l'indice d'iode doit être complété par la position des doubles liaisons et leur conjugaison afin de caractériser correctement la siccativité d'une huile. En effet, pour un triglycéride de composition donnée, la position relative des acides gras au sein du triglycéride modifie la réactivité chimique du triglycéride ¹⁰³. L'huile de lin est l'huile siccative la plus couramment utilisée. Le principal acide gras de cette huile est l'acide linoléique qui contient trois insaturations. Elle possède un indice d'iode de 180 ¹⁰³.

L'huile semi-siccative la plus courante est l'huile de soja. Elle possède un indice d'iode de 130 et est composée principalement de triglycérides d'acides linoléique et oléique ¹³³.

Concernant les huiles non-siccatives, nous pouvons citer l'huile de ricin composée majoritairement de l'acide ricinoléique qui est un acide gras mono insaturé, d'où le faible indice d'iode de cette huile (environ 80-90).

8.5. La siccativité

Ce paramètre indique l'aptitude des huiles végétales de « sécher », à température ambiante, en présence de l'oxygène de l'air ¹³⁴. La siccativité est officiellement définie comme « la propriété que possèdent certaines substances appliquées en couche mince, d'évoluer de façon irréversible de l'état liquide à l'état solide par polymérisation oxydative sous l'action de l'air, et éventuellement de la lumière ¹⁰³. Cette propriété est due à la présence d'insaturations contenues dans les chaînes aliphatiques des acides gras qui composent l'huile.

8.6. Indice de peroxyde

Le rancissement d'une huile est dû à une oxydation des acides gras insaturés d'une huile végétale. Cette réaction se fait en plusieurs étapes. L'indice de peroxyde est un contrôle de l'état d'avancement de la première étape. Plus cet indice est élevé, plus l'huile est oxydée. Cette oxydation est inéluctable, mais, des précautions prises lors de la récolte, de la trituration et du stockage permettent de la retarder.

8.7. Indice de fumée

Représente la température critique au-dessus de laquelle il ne faut pas chauffer l'huile. Le chauffage d'une huile ou d'une graisse au-delà de son point de fumée entraîne la décomposition des acides gras qu'elle contient et l'apparition de composés indésirables, dont certains cancérogènes, comme les hydrocarbures polycycliques aromatiques. Le Tableau *XIII* présente le point de fumée ¹³⁵ de quelques huiles végétales.

Tableau XIII . Point de fumée de quelques huiles végétales raffinées.

Huile végétales	Point de fumée en °C
Olive vierge	216
Arachide	227
Soja	232
Sésame	177
Tournesol	227
Palme	240
Mais	232

Chapitre 3. : Activité antioxydante

1. Introduction

Cette activité caractérise certaines espèces chimiques telles que les polyphénols et les vitamines de piéger les éléments réactifs qui sont issus de l'oxygène (ERO). Certaines réactions d'oxydation provoquent des dégâts souvent dangereux au niveau des cellules induisant plusieurs maladies.

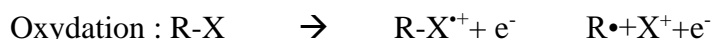
2. Radicaux libres

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins ^{136, 137}.

Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres, car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire ¹³⁸.

2.1. Formation des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être formés depuis une espèce radicalaire qui subit une réaction d'oxydoréduction. Il y a alors perte ou gain d'électron.



Le signe « • » représente l'électron célibataire.

2.2. Rupture homolytique

La production de radicaux libres peut se faire également par rupture homolytique d'une liaison covalente ¹³⁹, ce qui entraîne la formation de deux entités ayant chacune un électron célibataire :



Cette rupture induit le partage symétrique du doublet de valences commun, par opposition à la rupture hétérolytique qui donne naissance à des ions de charge opposée. Celle-

ci intervient le plus communément en phase gazeuse ou en phase liquide pour les molécules ayant des liaisons peu polarisées.

La molécule de dioxygène est représentative de ce type de rupture. L'énergie de liaison qui relie les deux atomes d'oxygène (150 kJ mol^{-1}) est relativement faible par rapport à la liaison carbone-carbone (346 kJ mol^{-1})¹⁴⁰. Cette liaison étant fragile, elle est plus facile à subir une rupture homolytique.

2.3. Cas particulier de l'oxygène

Dans les milieux biologiques, l'oxygène représente le receveur universel d'électrons à la fin de la chaîne respiratoire cellulaire. Le stress oxydatif se produit lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les antioxydants qui représentent le système de défense de l'organisme¹⁴¹.

La molécule d'oxygène ou dioxygène (O_2) a une structure de biradical stable, car elle possède deux électrons libres, et possède ainsi une forte affinité électronique¹³⁹.

Les oxydases permettent le passage de l'oxygène de l'état triplet à l'état doublet et les oxygénases font passer les molécules organiques (singulet) à l'état doublet.

2.4. Les principales espèces réactives de l'oxygène :

Les ERO peuvent être radicalaires (radicaux libres de l'oxygène à proprement dit) ou non radicalaires (certains dérivés oxygénés réactifs ne possédant pas d'électron célibataire).

Les différentes espèces réactives de l'oxygène¹⁴¹ sont regroupées dans le Tableau XIV suivant :

Tableau XIV. Espèces réactives de l'oxygène

Espèces radicalaires	Espèces non radicalaires
Anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène H_2O_2
Radical perhydroxyle HO_2^{\bullet}	Peroxyde organique ROOH
Radical hydroxyle OH^{\bullet}	Peroxynitrite ONOO^-
Radical peroxyde RO_2^{\bullet}	Acide hypochlorique HOCl
Radical alkoxyde RO^{\bullet}	

2.4.1. Les ERO radicalaires

2.4.1.1. Radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$

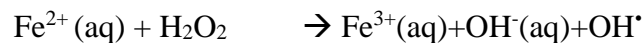
Ce radical se produit lorsqu'il y a une réduction monovalente de l'oxygène, soit l'apport d'un électron à la molécule O_2 . Cette réaction se fait dans les mitochondries lors de la respiration cellulaire. Un autre site de production est le polynucléaire neutrophile ¹³⁹.

2.4.1.2. Radical perhydroxyle HO_2^{\bullet}

Résulte de la protonation du radical superoxyde en milieu acide (pH < 4,8). Le radical perhydroxyle est plus réactif que le superoxyde, car le potentiel standard d'oxydoréduction est plus élevé ainsi que ses constantes de vitesse, notamment vis-à-vis des acides gras polyinsaturés (acides linoléique, linoléinique, arachidonique).

2.4.1.3. Radical hydroxyle OH^{\bullet}

Il s'agit d'un radical très toxique. Il résulte de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et certains ions métalliques comme le fer ou cuivre (réaction de Fenton) :



Le mélange fer ferreux et peroxyde d'hydrogène est appelé réactif de Fenton qui représente un oxydant puissant intervenant dans la peroxydation lipidique et par la suite destruction de la membrane lipidique ¹⁴².

2.4.1.4. Radical peroxyde RO_2^{\bullet}

Les radicaux peroxydes proviennent de l'oxydation de la membrane cellulaire par le radical hydroxyle ^{142,139}. Ces radicaux peuvent être captés également par l'ascorbate, qui devient alors le radical ascorbyl. La vitamine E capte aussi les radicaux peroxydes lipidiques qui propagent les chaînes de peroxydation. Dans ce processus le α -tocophérol (α -TH) perd un atome d'hydrogène pour se transformer en radical α -tocophéryle (α -T), alors que le peroxyde est réduit en hydroperoxyde (RO_2H) ¹³⁹ :



2.4.2. Les ERO non radicalaires

2.4.2.1. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène est obtenu à partir de l'anion superoxyde par dismutation spontanée ou par l'enzyme superoxyde dismutase. Ce radical présente une forte toxicité et une grande probabilité de réagir à proximité de son lieu de production.

2.4.2.2. Les espèces réactives de l'azote

Ces espèces proviennent de la réaction des ROS avec le monoxyde d'azote NO^\bullet . Ce dernier s'il est produit en quantité importante, devient délétère pour les cellules et peut réagir avec l'anion superoxyde pour former le peroxydinitrite ¹⁴³.

3. Le stress oxydant

Le stress oxydatif se produit lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires (ROS) et la capacité de défense antioxydante de l'organisme ¹⁴⁴. Ce mécanisme favorise la survenue de certaines pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré¹³⁹.

3.1. Origine du stress oxydant

La production des ROS peut être d'origine endogène comme le cas de la phagocytose pour défendre l'organisme contre des agents pathogènes (bactéries, virus). D'autres facteurs externes peuvent influencer la production des ROS comme la pollution, et le mode de vie.

3.1.1. Source endogène (Phagocytose)

Caractérise le processus par lequel s'effectue l'élimination des agents étrangers traversant les barrières de l'organisme par les macrophages ¹⁴⁵. Un autre mécanisme s'implique qui consiste à une dégranulation indépendante de l'oxygène permettant le déversement de substances bactéricides dans le phagosome. Dans ce contexte intervient le complexe enzymatique NADPH-oxydase qui s'assemble à la membrane du phagosome ¹³⁹. L'activation du système enzymatique de la NADPH-oxydase aboutit à une augmentation intense dans la production des ERO qui vont par la suite éliminer les particules étrangères.

L'autoxydation de l'hémoglobine constitue également une source importante de production endogène des ERO par la formation de l'anion radical $\text{O}_2^{\bullet-}$. En présence de donneurs d'électrons, une réduction bivalente de l' O_2 liée à l'hémoglobine prend place résultant en la formation du H_2O_2 ^{139, 146}.

3.1.2. Facteurs externes

L'absorption des rayons ultraviolets (UV) notamment les UVA par des chromophores qui vont alors être excités, génèrent un oxygène singulet et réduisent également l' O_2 en anion superoxyde (O_2^-). Ce dernier sera rapidement transformé par l'enzyme superoxyde dismutase

(SOD) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui sera réduit à son tour en radical hydroxyle (OH^\bullet) par la réaction de Fenton. Ce radical réagit par la suite avec les protéines, les lipides et l'ADN¹³⁸.

Un autre facteur qui agit sur la production des ROS est l'ozone O_3 ¹⁴⁷, il présente un gaz très réactif dans l'air qui peut interagir avec les composés du fluide périciliaire recouvrant l'épithélium bronchique comme la vitamine C, l'acide urique et le glutathion réduit donnant ainsi le glutathion oxydé¹³⁹. Il favorise aussi la migration des polynucléaires neutrophiles à la surface de l'épithélium respiratoire par chimioattraction, ce qui entraîne la production d'espèces réactives de l'oxygène.

Le mode de vie suivi comme l'ingestion d'alcool, d'antibiotiques et la consommation de certains aliments peut également influencer la production des radicaux libres¹⁴⁸.

3.2. Effets du stress oxydant sur l'organisme

Les Espèces Réactives de l'Oxygène réagissent avec de nombreuses molécules, ce qui influence le fonctionnement des cellules de l'organisme.

3.2.1. Altération des membranes lipidiques

La peroxydation lipidique représente l'un des effets des radicaux libres, en effet, les acides gras des lipides perdent un atome d'hydrogène qui réagit avec les radicaux libres formant ainsi des radicaux alkyles. Ces derniers réagissent avec l'oxygène moléculaire pour donner des radicaux peroxydes¹³⁹. Cette action conduit à une désorganisation des lipides membranaires.

3.2.2. Cancers

La réaction des ROS avec l'ADN notamment le radical HO^\bullet qui est connu par sa toxicité, entraîne des dommages oxydatifs sur l'ADN par la création de protéines mutantes. Cette mutation pourra être l'origine d'une cellule tumorale. Dans ce cas le système immunitaire luttera contre cette action par phagocytose en produisant des ROS qui peuvent muter de nouvelles cellules¹⁴⁹.

3.2.3. Diabète de type 2

Cette maladie caractérise un taux élevé du glucose dans le sang où cet élément est moins bien absorbé au niveau des tissus adipeux et musculaires.

L'hyperglycémie peut être à l'origine d'une production importante d'espèces réactives de l'oxygène¹⁵⁰. Cela conduit à un stress oxydant et une diminution de la compliance

vasculaire, ce qui peut provoquer des micro-angiopathies et macro-angiopathies caractérisant le diabète de type 2, à savoir la rétinopathie et l'insuffisance coronaire ¹³⁹.

3.2.4. Maladies neurodégénératives

Ce type de maladie implique le stress oxydatif par la mort des cellules telles que la maladie d'Alzheimer, et la maladie de Parkinson.

Certaines protéines neuronales comme l'alpha-synucléine subissent le stress oxydatif et peuvent être à l'origine de pathologies neurodégénératives ¹³⁹. Cette protéine est retrouvée sous forme nitrée dans les lésions cérébrales neurodégénératives comme résultat de sa réaction avec des espèces radicalaires ¹⁵¹.

4. Les antioxydants

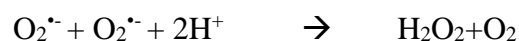
Les antioxydants représentent les substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat¹⁵². Ces substances se trouvent sous de nombreuses formes et leur rôle consiste à prévenir de la formation des radicaux libres, et à leur élimination.

Les antioxydants se présentent sous deux classes : endogènes et exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase ¹³⁹. La deuxième classe renferme les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par l'alimentation. Ces derniers sont également classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés ^{139 142}.

4.1. Les sources d'antioxydants endogènes

4.1.1. Superoxyde dismutases

Les superoxydes dismutases¹³⁹ sont des métalloenzymes. Elle constitue l'une des premières lignes de défense contre les ERO. C'est l'enzyme antioxydante anti anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) qu'elle transforme en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) selon l'équation suivante :



4.1.2. Catalases

Les catalases sont des enzymes intracellulaires localisées dans les peroxysomes, le peroxyde d'hydrogène représente sa cible principale. L'activité de la catalase est coordonnée avec la concentration en H_2O_2 ¹⁵³.



4.2. Les antioxydants exogènes

4.2.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvées dans le règne végétal. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes, comportent au moins un groupe phénolique dans leur structure et sont en général de haut poids moléculaire. Il existe plusieurs sous-groupes qui sont caractérisés par la structure de leur squelette carbonée ^{139, 154}.

Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations et interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...) ce qui leur assure des effets anti-athérogéniques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques et anti-cancérigènes ¹⁵⁵. Ils sont classés en deux groupes : les composés flavonoïdes et les composés non flavonoïdes. Le Tableau XV présente les principales classes des polyphénols ¹⁵⁶ ainsi que leurs caractéristiques.

Tableau XV . Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes

Les classes	Nombre de carbones	Squelette de base de carbone	Exemples
Phénols simples	6	C6	Le catechol, l'hydroquinone phloroglucinol
Acétophénonnes Phénylacétique	8	C6-C2	Hydroxyacétophénone p- hydroxyphénylacétate caféique, fêrulique
hydroxycinnamates	9	C6-C4, C6-C3	umbelliferone aesculétine bergénine eugenin
Isocoumarines	9		
Chromons	9		
Hydroxybenzoates	7	C6-C1	Salicylique, galique
Naphtoquinones	10	C6-C4	juglone, plumbagine
Xanthonnes	13	C6-C1- C6	Mangiférine
-stilbènes	14	C6- C2-- C6	resvératrol émodine
-flavonoïdes	15	C6-C3- C6	cyanidin génistéine

-lignanes	18	(C6-C3) ₂	Pinorésinol
Bioflavonoïdes	30	(C6-C3- C6) ₂	Amentoflavone
-hydrolysable tanins	n	(C6-C 1) _n : GLc	Galotannins
Tanins condensés	n	(C6-C 3- C6) _n	Les polymères de catéchine
Lignines	n	(C6-C 3) _n	Lignines guaiacyle
Mélanines catéchol		(C6) n	

4.2.1.1. Les acides-phénoliques

Les acides phénoliques sont divisés en deux classes : Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique. Les acides hydroxybenzoïques sont à la base de structures complexes comme les tanins hydrolysables présents dans les mangues, et les fruits rouges ¹⁵⁷. Les acides hydroxycinnamiques sont principalement composés d'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique ¹⁵⁸. Le nombre de carbones dans la chaîne renfermant la fonction acide, définit le type d'acide phénolique : l'acide gallique, l'acide caféique par exemple, qui ont une bonne activité antioxydante. La Figure 6 illustre la structure de l'acide gallique.

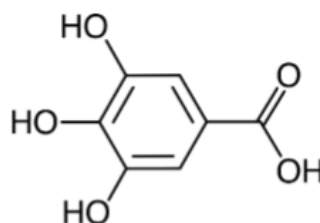


Figure 6 . Structure de l'acide gallique

4.2.1.2. Les stilbènes

Les classes de cette famille se distinguent par le nombre et les positions des fonctions hydroxyles sur les cycles phénoliques ¹⁵⁹. Ces composés sont principalement retrouvés dans des familles comme les Melanthiaceae, Polygonaceae, Moraceae, Vitaceae... et sont également retrouvés dans le raisin, les fruits rouges, les cacahuètes ou la rhubarbe pour une teneur allant de quelques milligrammes à plusieurs centaines de milligrammes par kilogrammes de matière sèche ¹⁶⁰.

4.2.1.3. Les lignanes

Ce sont de composés naturels, décrits la première fois par Haworth en 1936 comme un ensemble de deux molécules ayant un squelette phénylpropane ¹⁶¹. Les lignanes sont en fait issus de l'union de deux unités monolignols. Les monolignols sont des dérivés de l'alcool cinnamique et ont en commun un squelette 1-phénylpropane.

Les lignanes sont principalement répandus dans le règne végétal, comme dans les graines de sésame et de lin que l'on en retrouve le plus¹³⁹.

4.2.1.4. Les flavonoïdes

Ces composés représentent le groupe le plus vaste et le plus distribué dans le règne végétal. La Figure 7 présente la structure du squelette chimique des flavonoïdes.

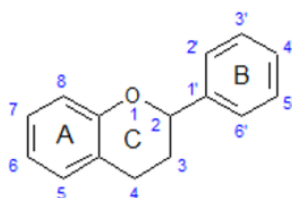


Figure 7 . Structure chimique des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné. Selon le degré d'oxydation, les flavonoïdes sont classés en six classes (Tableau XVI): anthocyane, flavonols, flavone, flavanones, isoflavone, flavanol ¹³⁹.

Tableau XVI . Principales sous classes des flavonoides

Type de flavonoïdes	Formule chimique	Sources	Principales molécules
Anthocyane		Baies, fruits rouges	cyanidine, pélagonidine, malvidine, delphinidine
Flavonol	3-hydroxy-2phénylchromen4-one	Oignons, brocolis, tomate, thé	Quercétine, kaempférol, myricétine
Flavone	2-phénylchromen4-on	Tisanes, plantes aromatiques	Apigénine, lutéoline
Flavanone	2,3-dihydro-2phenylchromen4-one	Agrumes	Herpéretine, naringénine, ériodictyol
Isoflavone		Soja, légumineuse	Daïdzéine, génistéine
Flavanol	2-phényl-3chromanol	Fruits, cacao, thé, vin	Catéchines, galocatéchines (monomères), proanthocyanidines

Ces composés sont connus par leurs propriétés antioxydantes efficaces. Plusieurs études ont été menées sur les effets des flavonoïdes sur la santé, ont suggéré qu'ils ont un effet protecteur contre les dommages causés par le cholestérol dans les vaisseaux sanguins ¹⁶². de plus ils ont un rôle important dans les mécanismes de défense contre le stress oxydatif des agents oxydants et des radicaux libres ¹⁶³.

4.2.2. Les vitamines

Les vitamines sont des substances organiques, qui sont nécessaires à l'organisme et que le corps humain ne peut pas synthétiser en quantité suffisante. Elles doivent être fournies par l'alimentation. Elles sont présentes dans les produits d'origine végétale (fruits, légumes, céréales et les grains oléagineux...) et animale (viandes, poissons, œufs, produits laitiers ...).

Elles sont classées en deux groupes selon leurs propriétés de solubilité ; des vitamines liposolubles et des vitamines hydrosolubles ¹⁶⁴. Le Tableau XVII présente les différentes vitamines connues :

Tableau XVII. Classification des vitamines

Classe des vitamines	Nom chimique	Abréviation
Vitamines liposolubles	Rétinol	Vitamine A
	Calciférol	Vitamine D
	Tocophérol	Vitamine E
	Phytoménadione phylloquinone	Vitamine K1
Vitamines hydrosolubles	Thiamine	Vitamine B1
	Riboflavine	Vitamine B2
	Acide pantothénique	Vitamine B5
	Pyridoxine	Vitamine B6
	Niacine	Vitamine PP ou B3
	Acide folique	Vitamine B9
	Cobalamine	Vitamine B12
	Acide ascorbique	Vitamine C
Biotine	Vitamine H ou B8	

4.2.2.1. Vitamine E

La vitamine E est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols (Figure 8) et tocotriénols (Figure 9) (ensemble de 8 molécules dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols).

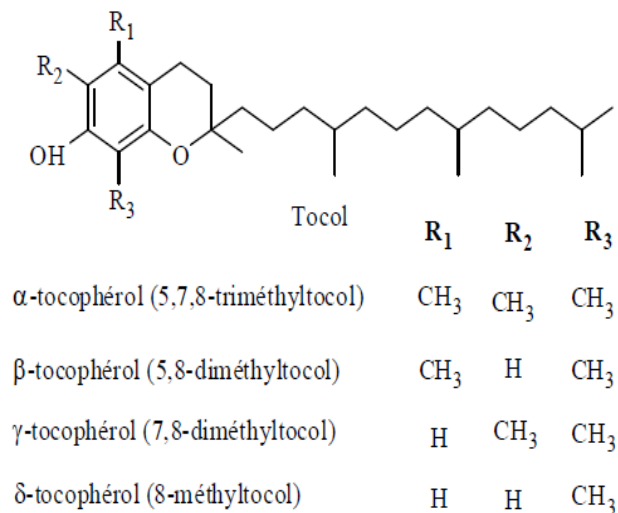


Figure 8 . Structures chimiques des tocophérols

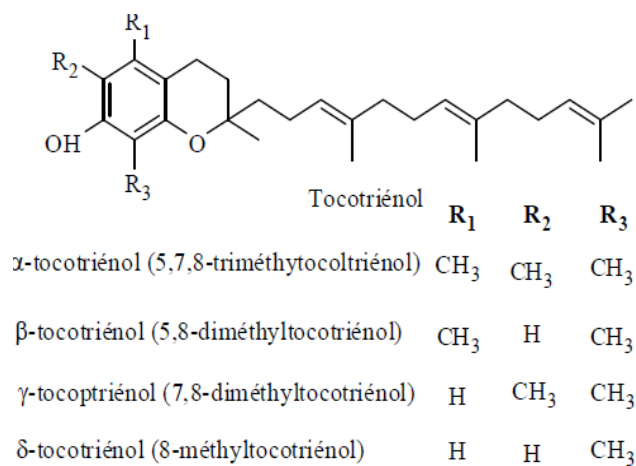


Figure 9 . Structures chimiques des tocotriénols

Ces molécules constituent de bons antioxydants, elles ont plusieurs effets bénéfiques comme la fortification des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour prévenir contre le stress oxydant. En effet, la vitamine E prévient l'apparition d'hydroperoxydes^{130 165}.

L'α-tocophérol constitue la forme de la vitamine E la plus active, elle est placée sur les membranes cellulaires et intervient dans la prévention contre la peroxydation lipidique¹³⁹.

Elle peut aussi réguler à la hausse les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, le glutathion peroxydase, la catalase du foie et la NAD(P)H réductase. L'α-tocophérol n'est pas biosynthétisée¹⁶⁶. Elle est présente dans les huiles végétales, notamment dans l'huile de germe de blé, de tournesol, de soja, d'arachide ou d'olive. Elle se trouve aussi en quantité faible dans les céréales, les amandes et les légumes verts¹⁶⁷.

4.2.2.2. Vitamine C ou acide L-ascorbique

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble, sa structure chimique est très proche d'un sucre ($C_6H_8O_6$). Cette molécule contient deux carbones asymétriques lui assurant plusieurs fonctions : une fonction lactone, deux fonctions alcool puis une fonction ène-diol ($HO - C = C = OH$)¹⁶⁸. L'activité biologique de la vitamine C est attribuée à la fonction ène-diol. En effet elle limite le processus d'oxydation en captant directement l' O_2^- et l' OH . L'acide ascorbique représente l'antioxydant hydrosoluble le plus puissant, il intervient également dans la régénération de la vitamine E¹⁶⁹.

4.2.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes constituent une famille de pigments de nature terpénoïde leur couleur varie du jaune au rouge orangé dont l'absorption de la lumière se situe entre 400 et 550 nm¹⁷⁰. Le bêta-carotène représente le caroténoïde le plus connu et il a été démontré qu'il est présent dans les LDL et il est capable d'inhiber leur oxydation in vitro¹⁷¹.

Les caroténoïdes sont classés en deux groupes selon leur puissance de neutraliser les ERO : ceux porteurs de substituants oxygénés (lutéine, zéaxanthine et la cryptoxanthine) et ceux qui n'ont pas d'oxygène (α -carotène, β -carotène et lycopène). Ces derniers sont localisés dans les compartiments lipidiques à cause de leur nature lipophiles¹³⁹.

La réaction entre les caroténoïdes et les espèces réactives de l'oxygène se fait de trois façons : transfert d'électron, le transfert d'hydrogène et la liaison directe avec les ERO. Également, les caroténoïdes sont capables de régénérer la vitamine E et eux-mêmes sont régénérés par la vitamine C¹⁵¹.

4.2.4. Les oligoéléments

Les oligoéléments sont des éléments chimiques présents dans le corps humain en concentration inférieure à 0,01%, ils ne sont pas synthétisés biologiquement¹³⁹.

Ils représentent des cofacteurs importants pour des réactions métaboliques des enzymes antioxydantes comme la SOD, le glutathion peroxydase et la catalase. Les principaux éléments impliqués sont le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc¹³⁹.

5. Méthodes de dosage de l'activité antioxydante

Les antioxydants peuvent désactiver les ERO par deux réactions principales, transfert d'électron SET (Single Electron Transfer) et le transfert d'hydrogène (HAT) (Hydrogen atom

transfer). Néanmoins, ces deux réactions peuvent se produire en parallèle, et qu'elles sont parfois difficiles à distinguer¹⁷². Plusieurs facteurs influencent la réaction dominante : l'énergie de dissociation de liaison et le potentiel d'ionisation (l'énergie qu'il faut fournir à un atome ou une molécule pour arracher un électron). La structure et la solubilité des antioxydants, et le coefficient de partage (constante d'équilibre de la réaction)¹⁷³. Le Tableau XVIII présente les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant¹⁵⁴.

Tableau XVIII : Méthodes de mesure de la capacité antioxydante (CA) in vitro

<p>Méthodes basées sur le transfert d'électron (SET)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) • DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) • FRAP (Ferric reducing antioxidant power) • Folin-Ciocalteu
<p>Méthodes basées sur le transfert d'hydrogène (HAT)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) • TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter) • Crocin bleaching assay • IOU (Inhibited oxygen uptake) • Inhibition of LDL oxidation

5.1. Méthodes utilisant les mécanismes de transfert d'électron (SET)

5.1.1. TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) avec ABTS

Cette technique est basée sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La solution ABTS est obtenue par mélange de l'ABTS avec un oxydant (généralement le persulfate de potassium) donnant ainsi une solution d'une couleur bleu intense à verte. Lors de l'ajout d'antioxydants, le radical est réduit, cela provoque la décoloration du mélange. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm et elle est proportionnelle à la concentration en antioxydants. La CA est mesurée comme la capacité des composés tests à diminuer l'intensité de la coloration obtenue à partir de l'ABTS en la comparant avec un antioxydant de référence généralement le Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique). La réduction de l'ABTS conduit à une décoloration du bleu de la solution ABTS mesurée à 645 - 734 nm de la solution¹⁷⁴. Plus l'absorbance finale est faible, plus la valeur TEAC est élevée, c.-à-d. plus l'antioxydant est efficace¹⁷⁵. Elle a pour

avantages sa simplicité à mettre en œuvre et sa rapidité. De plus, la solution d'ABTS est soluble dans l'eau et dans les solvants organiques et n'est pas affectée par la force ionique ¹⁷⁶.

5.1.2. Présentation de la méthode DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le DPPH est un radical libre stable qui agit en se combinant avec d'autres radicaux libres. Il a un électron libre sur un atome du pont d'azote (Figure 10). La coloration bleu violet caractéristique du réactif est due à la délocalisation de cet électron.

La concentration en antioxydants est proportionnelle à la baisse de l'absorbance due à la diminution de l'intensité de la coloration de la solution DPPH. Cette concentration sera donc calculée par la formule suivante : $AA\% = 100 - \frac{\text{Abs échantillon} - \text{Abs blanc}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$ ¹⁷⁷.

Le test DPPH a pour avantage d'être simple à manipuler et peu coûteux ¹⁷². Toutefois, certains antioxydants peuvent rester inertes face au DPPH relativement stable ¹⁵⁴. De plus, il y a des réactions avec le DPPH qui sont réversibles et peuvent mener à une sous-estimation du potentiel des produits testés, et beaucoup d'antioxydants peuvent réagir plus lentement avec le DPPH ¹⁷².

De même, le DPPH n'est soluble que dans des solvants organiques (éthanol, méthanol), ce qui rend la mesure de la CA d'antioxydants hydrophiles difficiles ¹⁷⁸. En outre ce radical est instable à la lumière, ce qui exige la réalisation des tests DPPH dans l'obscurité ¹⁷⁹. La Figure 10 présente le radical DPPH sous forme réduite et à l'état de radical libre ¹³⁹.



Figure 10 . Le radical DPPH[•] et sa forme réduite

Les mesures de la cinétique de la réduction du radical DPPH[•] (diminution de l'absorbance DPPH[•]) permettent d'évaluer la vitesse de transfert de l'hydrogène de

l'antioxydant vers le radical DPPH[•] et de le neutraliser. Ces mesures permettent de calculer le temps nécessaire pour diminuer la concentration initiale de DPPH[•] de 50% (TCE50).

Le pouvoir antioxydant est rapporté par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique, le BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le Trolox (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique).

5.1.3. Le Test FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des produits testés à réduire le fer par transfert d'électron¹⁸⁰. Elle consiste à observer après quatre minutes le changement d'absorbance à 593 nm dû à la réduction du complexe Fe³⁺ - TPTZ (fer 2, 4,6-tripyridyls-triazine) et l'apparition d'une couleur bleue. La méthode FRAP a pour avantage d'être aussi adéquate pour mesurer le potentiel de composés purs¹⁷². De plus, elle est simple, rapide et peu coûteuse.

Néanmoins, le temps de réaction est long pour certains phénols (30 minutes) ce qui limite l'utilisation de cette technique¹⁵⁴. En outre, les protéines ou les composés contenant le groupe sulfhydryle sont difficilement détectés¹⁷².

5.2. Méthodes utilisant les mécanismes de transfert d'hydrogène (HAT)

5.2.1. Les méthodes ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)

Le test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) est une méthode de mesure de la capacité antioxydante des échantillons biologiques *in vitro*¹⁴².

Cette technique fait intervenir une mesure cinétique afin de déterminer le pouvoir antioxydant. Des courbes de la dégradation de la molécule cible en présence ou non d'un antioxydant sont tracées en fonction du temps, et l'aire située entre les deux courbes de décroissance est calculée.

La méthode ORAC a pour avantage d'être sensible, standardisée et adaptée aux antioxydants hydrophiles et lipophiles¹⁷². Également, cette technique permet d'évaluer dynamiquement les capacités antioxydantes de composés.

Cependant, les principaux inconvénients de l'utilisation de l'ORAC sont que ces réactions sont sensibles à la température, notons aussi que le temps d'analyse est assez important¹⁸¹.

Chapitre 4. : Activité antibactérienne

1. Introduction

Les infections humaines causées par des bactéries et des champignons ne cessent d'augmenter générant ainsi plusieurs pathologies. Le traitement de ces maladies fait appel à l'usage des antibiotiques qui représentent l'un des groupes de médicaments les plus employés en médecine. Néanmoins, l'utilisation fréquente et parfois abusive de ces derniers a provoqué l'émergence de bactéries résistantes, d'où le recours vers de nouvelles voies s'avère important.

Afin de remédier à ces problèmes, les chercheurs se sont orientés vers des solutions alternatives, basées en particulier, sur les propriétés des plantes médicinales et aromatiques qui constituent une source inépuisable de molécules actives contre les agents microbiens (comme les alcaloïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles, etc.).

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits du *Zizyphus lotus* sur des germes responsables de certaines infections gastriques et urinaires.

2. L'activité antibactérienne

2.1. Culture des bactéries

Pour le développement des bactéries, plusieurs milieux de culture sont utilisés à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'Agar.

Dans les milieux liquides, les bactéries peuvent se disperser librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, nommée une colonie (si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe).

2.2. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances antibactériennes produites par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capables d'inhiber la

multiplication ou détruire les micro-organismes. Ces substances agissent d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des microorganismes ¹⁸².

2.3. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques est basée sur plusieurs critères ; selon leur origine qu'ils soient élaborés par un organisme (origine naturelle) ou produit par synthèse (synthétique ou semi-synthétique), selon le mode d'action : s'il est destiné à attaquer les parois, la membrane cytoplasmique, la synthèse des protéines, ou la synthèse des acides nucléiques ou selon la nature chimique ¹⁸³.

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont : les β -lactamines, les aminosides, les tétracyclines, les macrolides et les quinolones ¹⁸³.

2.4. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques

L'utilisation excessive et incontrôlée des antibiotiques a émergé le phénomène d'antibiorésistance qui est devenu une menace pour la santé humaine. Les souches bactériennes peuvent devenir résistantes aux antibiotiques par différents mécanismes. On distingue deux modes :

- **Résistance naturelle** chez certaines espèces comme les Entérobactéries et Pseudomonas aux macrolides ou encore les bactéries à Gram négatif qui résiste à la vancomycine ¹⁸⁴. Soit d'une mutation survenant sur le chromosome bactérien.

- **Soit de l'acquisition** d'une information génétique provenant d'une bactérie déjà résistante ¹⁸⁵. De plus, une même bactérie peut contenir plusieurs plasmides, comportant eux-mêmes plusieurs gènes de résistances provoquant ainsi la résistance d'une bactérie à différentes familles d'antibiotiques (multirésistantes), par exemple, Streptococcus pneumoniae de sensibilité diminuée aux pénicillines, les entérobactéries résistantes à l'amoxicilline et les Staphylococcus aureus résistants à la pénicilline ¹⁸⁴.

2.5. Description des micro-organisme étudiés

2.5.1. Bactéries à gram négatif

2.5.1.1. Escherichia coli

Ce sont des bacilles à coloration de Gram négatif, non sporulé, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase. Le genre Escherichia compte cinq espèces : E. coli, E. fergusonii, E. hermannii, E. vulneris et E. blattae ¹⁸⁶.

L'*E. coli* est placée dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La majorité des souches de *E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes. C'est le cas des souches d'*E. coli* dites entérohémorragiques provoquant des diarrhées sanglantes ¹⁸⁷.

2.5.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

P.a est une bactérie à Gram négatif qui appartient à la famille des Pseudomonadaceae regroupant dix genres : Azomonas, Azomonotrichon, Azorhizophilus, Azotobacter, Cellvibrio, Mesophilobacter, Pseudomonas, Rhizobacter, Rugamonas, et Serpens. Le genre Pseudomonas regroupe plus de 140 espèces¹⁸⁸. C'est un bacille à Gram ubiquitaire, se trouve en particulier dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Sa longueur est de 1 à 5 µm et de 0,5 à 1 µm de large ¹⁸⁹. Cette bactérie est responsable des infections nosocomiales et certaines infections postopératoires ¹⁹⁰.

2.5.2. Bactéries à Gram positif

S. aureus est une coque à coloration de Gram positif. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas. Cette bactérie possède une catalase et une coagulase. *S. aureus* du genre Staphylococcus, parfois appelée staphylocoque doré ¹⁹¹.

Le staphylocoque est considéré parmi les éléments de la flore bactérienne naturelle de la peau et des muqueuses. Elle peut se développer au niveau des lésions de certaines blessures et provoquer une infection cutanée dont le degré de gravité est lié à la souche bactérienne et à l'origine de l'infection¹⁸⁷.

2.5.3. Levure : *Candida albican*

Les « Levures » comportent tous les champignons microscopiques unicellulaires de forme sphériques ou ovoïdes se multipliant par bourgeonnement. Le genre *Candida* compte 81 espèces, dont seulement une dizaine ont été reconnus nocifs pour l'homme, en raison de leur faculté d'adaptation à la température de 37°C ¹⁹².

L'espèce *Candida albicans* est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie de 3 à 15 µm de long. Elle est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire ¹⁹³.

2.6. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique

2.6.1. Technique en milieu solide

2.6.1.1. *Technique de diffusion en puits :*

Cette technique consiste à creuser des puits (d'environ 6mm) au centre de la gélose dans lesquelles sera coulée une quantité des extraits purs ou dilués. Après incubation, des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont obtenues (pour les extraits actifs) et mesurées ¹⁹⁴.

2.6.1.2. *Méthode de la diffusion en disque*

Ressemble à la méthode des puits, à partir de cultures bactériennes de 6 heures en bouillon nutritif, des dilutions sont faites en eau physiologique stérile (10^{-1} , 10^{-2}), puis 5 mL de la dilution (10^{-2}) de chaque souche sont versés sur le milieu solidifié et l'excès est éliminé après 2 à 3 min.

À l'aide d'une pince stérile, 1 ou 3 disques de diffusion sont placés à la surface des boîtes inoculées et chacun est injecté par 10 μ L d'extrait végétal.

Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance du micro-organisme testé, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque de l'antimicrobien est corrélé avec la concentration minimale inhibitrice (CMI). Plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration de l'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible.

2.6.2. Technique en milieu liquide (méthode de dilution)

Les méthodes de dilution en bouillon et en gélose ont pour but de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/mL ou mg/L). Néanmoins, la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue. La « véritable » CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate.

2.6.3. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Elle est définie en tant que la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un micro-organisme après incubation ¹⁹⁵.

2.6.4. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

C'est la plus petite concentration d'extrait qui ne laisse que 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 24h d'incubation.

Chapitre 5. : Formulation

1. Introduction

Depuis l'antiquité, l'Homme cherche à s'approvisionner en nourriture en mettant en œuvre des préparations qui pourront se conserver longtemps jusqu'à nos jours. Donc l'Homme a pratiqué la formulation d'une manière artisanale et s'est développé au XX^{ème} siècle en procédés de fabrication répondant à un besoin tout en respectant les normes d'hygiène et de sécurité.

La formulation d'un produit est une étape à la fois complexe et clé du processus d'innovation et de développement de nouveaux produits. Elle nécessite la prise en compte des propriétés propres aux matières premières et des contraintes exprimées dans le cahier des charges : la composition, les caractéristiques nutritionnelles, les risques associés, le coût.

Les matières premières pour la réalisation d'une formulation dans le domaine alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, phytosanitaire, peuvent être d'origine végétale.

La recherche qui est à l'origine du progrès, a mis au point plusieurs procédés de formulations à partir de matières végétales qui existent en abondance dans la nature et que les études scientifiques réalisées ont montrés leurs bienfaits. C'est le cas du *Zizyphus lotus* largement distribué dans les régions méditerranéennes, comme l'Algérie, le Maroc, la Tunisie et la Libye ¹⁹⁶. Cette plante est utilisée dans les domaines de la nutrition, de la santé et des cosmétiques sous plusieurs formes. De plus, en médecine traditionnelle, en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, plusieurs parties de *Zizyphus lotus* sont administrées comme agents des troubles urinaires, contre des infections cutanées, antipyrétiques, anti diarrhée, agents insomniaques, sédatifs, contre les bronchites et pour ces activités hypoglycémiques ⁸⁸. D'autre part, cette plante offre un délicieux fruit qui pourrait être consommé frais, séché et transformé en nourriture par les populations locales en quantités substantielles ¹⁹⁷.

Dans le cosmétique une étude consistait à formuler et à évaluer un tonique capillaire à partir d'extrait de feuilles de *Zizyphus jujuba* ¹⁹⁸ à l'aide d'huile de noix de coco comme base. Cette nouvelle formulation maintient le pH acide (≤ 5), augmente le flux sanguin et empêche les infections du cuir chevelu. Les formulations préparées ont été évaluées pour le test d'irritation primaire de la peau. Il a été conclu que ce nouveau tonique capillaire possède une activité favorisant la croissance des cheveux. Une autre étude a été menée en cosmétique qui porte sur la formulation d'une émulsion eau dans huile (E / H) stable contenant l'extrait brut

hydroalcoolique de feuilles de *Ziziphus mauritiana* pour le rajeunissement de la peau ¹⁹⁹. Le rajeunissement de la peau a été évalué sur 13 volontaires humains en bonne santé sur une période de 8 semaines. Au cours de cette période, divers paramètres cutanés tels que l'érythème, le niveau de mélanine, la teneur en humidité, l'élasticité et la teneur en sébum de la peau ont été évalués à des intervalles spécifiés. Il ressort clairement des essais de cette formulation que l'extrait de feuilles de *Ziziphus mauritiana* possède des propriétés antiâges et exerce des effets éclaircissants, hydratants et viscoélastiques sur la peau ²⁰⁰.

Un autre travail dans le domaine alimentaire porte sur la possibilité de valoriser les fruits du *Zizyphus lotus* par l'incorporation de la poudre dans la crème dessert afin d'améliorer sa qualité nutritionnelle. Grâce aux analyses biochimiques, plusieurs composants essentiels ont été détectés : les sucres avec un taux de 17,19%, l'eau est de 15,65%, à côté d'autres éléments tels que les protéines, les éléments minéraux. Les caractères sensoriels montrent que la crème dessert élaborée à 30% de l'extrait aqueux de *Zizyphus lotus* L ²⁰¹ est la plus appréciée par rapport aux autres produits, cette formulation a donné des résultats très intéressants.

Un autre travail dans le domaine thérapeutique a pour but de formuler et d'évaluer la crème à base de plantes contenant de l'extrait d'éther de pétrole de *Ziziphus jujuba* pour son potentiel analgésique. La crème à base de plantes a été formulée en utilisant un extrait d'éther de pétrole de *Ziziphus jujuba* à différentes concentrations (5% et 10%) et évalué ses propriétés de formulation, viscosité, pH de la crème et étalement. Plus loin, la crème formulée a été évaluée pour déterminer son activité analgésique sur un modèle animal. Les résultats obtenus indiquent que la formulation de l'extrait de *Ziziphus jujuba* est sans danger et bénéfique pour apaiser la douleur.

Dans ce contexte s'inscrit notre travail de recherche qui a pour but d'élaborer des crèmes à des fins cosmétiques, à partir du *Zizyphus lotus* et déterminer leurs caractéristiques.

2. Définition de la formulation

La formulation représente un ensemble des opérations mises en œuvre lors du mélange ou de la mise en forme d'ingrédients (matières premières), souvent incompatibles entre eux, de façon à obtenir un produit commercial caractérisé par sa fonction d'usage ²⁰². Deux cas se présentent :

2.1. Invention

Consiste en une création d'une nouvelle formule dans le cadre d'un travail de recherche et développement qui peut demander plusieurs mois. Les exigences du cahier des charges peuvent, en cours d'étude, être et /ou négociées avec le client qui apporte son aide, ou le responsable production.

2.2. Amélioration

Ce processus a lieu pour une formule existante à cause de diverses raisons, telles que l'optimisation du rapport performances /prix, la substitution de matières premières ou l'adaptation à une législation comme la suppression ou la réduction d'un substituant toxique ²⁰².

Les constituants utilisés dans une formulation se distinguent selon leur rôle dans le produit fabriqué, soit qu'ils sont directement destinés ou non à remplir la fonction d'utilisation en matière active permettant de remplir la fonction d'usage et auxiliaires de formulation ²⁰², ces derniers ayant pour but d'améliorer les performances du produit comme les conservateurs, parfums et colorants.

3. Définition du produit cosmétique

Le mot cosmétique est d'origine grecque kosmêtikos, de kosmos signifiant la beauté, l'ordre, l'ornement, la parure et la belle apparence ²⁰³.

Selon l'Agence Nationale de la Sécurité des Médicaments et des produits de santé, « le produit cosmétique est une substance ou un mélange destiné à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain (épiderme, systèmes pileux et capillaire, ongles, lèvres et organes génitaux externes) ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles ».

Un produit cosmétique se caractérise toujours par une action superficielle, une utilisation non médicale, il ne peut et ne doit pas agir en profondeur et interférer sur les fonctions physiologiques des tissus et des organes ²⁰³.

On distingue quatre grandes classes de produits cosmétiques ²⁰²:

- Produits capillaires ;
- Produits d'hygiène et de soins ;

- Produits de maquillage ;
- Parfumerie alcoolique.

4. Composition d'un produit cosmétique

Un produit cosmétique est le résultat d'un mélange de plusieurs composants choisis d'une façon appropriée. Selon leurs fonctions, ces ingrédients sont regroupés en trois catégories ²⁰⁴ :

- **Le principe actif** : Il définit l'efficacité du produit cosmétique, produits bronzants, antirides, hydratants ...
- **L'excipient**, qui définit la forme finale du produit, et détermine sa texture soit une émulsion huile/eau ou eau/huile ou sous forme de gel. Cette texture joue un rôle important dans l'usage final du produit cosmétique, soit qu'il sera appliqué sur la chevelure, l'épiderme, ou sur les dents ...
- **Les additifs ou adjuvant**, qui contribuent à l'amélioration des propriétés du produit fini, le colorer (conférer une couleur adaptée et un aspect plus captivant), le conserver, le parfumer (donnant le plaisir d'usage des produits cosmétiques, influencer le choix du consommateur et le fidéliser), les filmogènes et les ajusteurs de pH.

5. Conservation des produits cosmétiques

La contamination d'un produit cosmétique peut survenir à toute étape de la formulation ; si les matières premières sont conditionnées d'une façon inappropriée, matériels non stériles, non-respect d'hygiène par le personnel, l'eau qui entre dans la fabrication du produit inadéquat et lors du conditionnement du produit final. C'est pourquoi l'ajout des conservateurs s'avère indispensable dans le processus de fabrication des émulsions ²⁰⁵.

5.1. Rôles des conservateurs

Les conservateurs sont toutes matières d'origine naturelle ou synthétique, ajoutée en faible quantité afin d'éviter la dégradation microbienne ou chimique d'un produit ²⁰⁵ en préservant les matières premières de se transformer en milieu de culture pour les microorganismes. Selon leur rôle dans chaque formulation, on distingue plusieurs classes de conservateurs :

- **Conservateur antiseptique** : ce type permet d'éviter ou retarder les contaminations microbiennes des produits cosmétiques, soit au cours de leur formulation ou lors de l'utilisation.

- **Conservateur antibactérien** : Il est utilisé pour empêcher le développement des micro-organismes lorsqu'il s'agit des bactéries.

- **Conservateur antifongique** : son rôle consiste à éliminer et empêcher le développement des champignons microscopiques.

Chaque conservateur utilisé doit être autorisé par une législation et présenté avec des conditions d'utilisation selon le type de produit, la partie du corps pour les cosmétiques et produits de soin, et la concentration maximale²⁰².

Les conservateurs les plus utilisés dans les formulations alimentaires et cosmétiques sont les acides organiques et leurs sels : acide benzoïque, acide formique, acide sorbique, acide salicylique, acide propionique.

6. Les formes galéniques

Les formulations employées pour les produits cosmétiques sont nombreuses²⁰⁴ ; on distingue des formes solides (par exemple les poudres), semi-solides comme les pommades et liquides (comme les shampoings). D'un point de vue physique, ces formulations sont classées en trois catégories (Figure 11) :

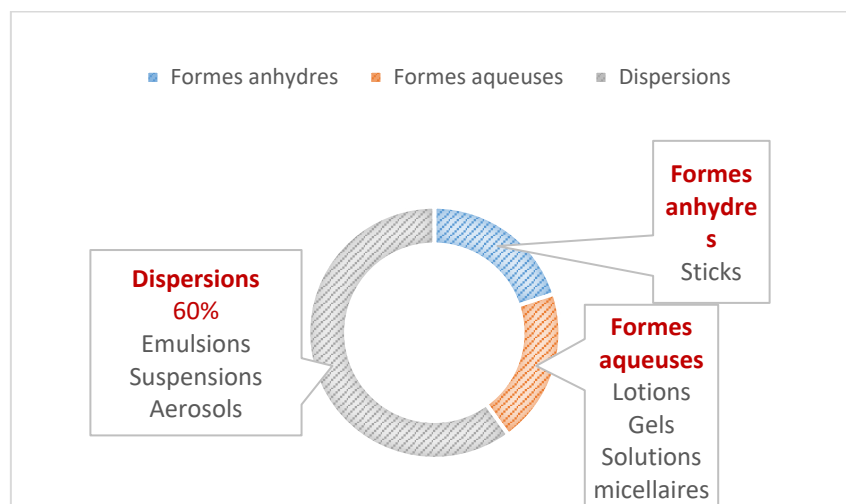


Figure 11 . Principales formes galéniques des produits cosmétiques

Dans cette étude nous nous intéressons aux émulsions qui se présentent sous la forme de crèmes.

6.1. Définition des crèmes

Les crèmes sont des émulsions épaissies formées d'un mélange d'une phase huileuse et d'une phase aqueuse. Leur formulation, leur consistance et les principes actifs qu'elles contiennent sont en fonction de la nature de la peau et le but recherché.

6.1.1. Présentation des émulsions

Les émulsions sont formées par le mélange de deux liquides immiscibles ; dans ce mélange les gouttelettes d'un liquide sont dispersées dans l'autre liquide. Le liquide dispersé en petits globules caractérise la phase dispersée, nommée également interne ou discontinue¹⁸⁷. L'autre liquide représente la phase continue.

On distingue deux types d'émulsion selon la nature de la phase continue est hydrophile ou lipophile. Dans un mélange où la solution aqueuse représente la phase continue, et l'autre liquide (l'huile) est la phase dispersée, l'émulsion est de type huile-dans-eau (H/E). Ces émulsions sont caractérisées par la taille de leurs particules qui varie entre 1 et 100 micromètres de diamètre²⁰³. Contrairement si l'eau est la phase dispersée et que la matière grasse représente la phase continue, le mélange est de nature eau dans huile (E/H).

Ces deux types sont désignés par émulsion simple : chaque système contient deux phases (lipophile et hydrophile). Il existe des émulsions multiples formées par trois phases où la phase dispersée constitue elle-même une émulsion, à titre d'exemple les émulsions eau dans l'huile dans l'eau (E/H/E), et les émulsions huile dans l'eau dans l'huile (H/E/H)²⁰⁴(Figure 12).

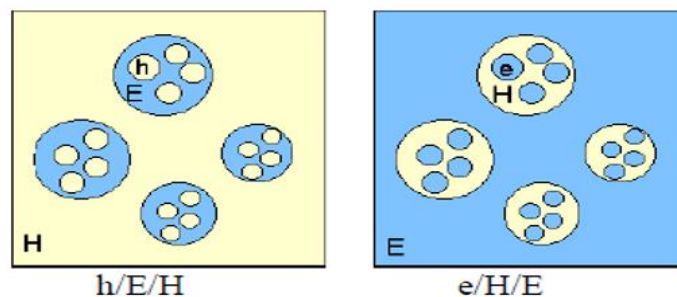


Figure 12 . Schéma représentatif des émulsions simples H/E/H et E/H/E

Les émulsions sont confrontées au phénomène d'instabilité qui se manifeste par la rupture de phase ; dans ce contexte deux états se présentent (Figure 13) :

- Coalescence : Dans ce cas, les particules ont vocation à se réunir pour en former de plus grosses, d'une façon à minimiser la surface de contact entre les deux liquides formant le mélange.

- Crémage : caractériser par le déplacement des particules de la phase huileuse vers la surface du mélange ²⁰². L'homogénéisation des deux phases formant l'émulsion nécessite alors l'ajout d'un ou plusieurs tensioactifs ou émulsifiants.

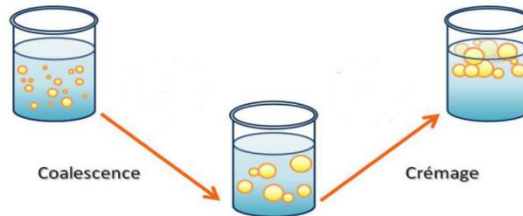


Figure 13 . Schéma de séparation des phases dans une émulsion

6.1.1.1. Définition des émulsifiants

Sont des molécules présentant deux parties de polarité différente l'une lipophile, l'autre est hydrophile (amphiphile). Ces molécules ont pour but de modifier la tension interfaciale des deux phases constituant l'émulsion ; elles sont nommées également agents de surface ou surfactants ²⁰². Les émulsifiants sont d'origine naturelle ou synthétique formant un « film interfacial » autour des particules qui se trouvent dans la phase dispersée ²⁰⁴.

Les tensioactifs se fonctionnent de façon à ce que leurs têtes (partie hydrophile) établissent des liaisons hydrogènes avec les molécules de la phase hydrophile, et que leur partie hydrophobe établisse des liaisons de Van der Waals avec les molécules de la phase lipophile (Figure 14). Ils sont classés en tensioactifs anioniques, cationiques, amphotères et non ioniques.

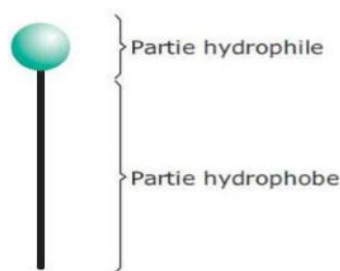


Figure 14. Schéma d'un tensioactif

- Tensioactifs ioniques : Sont anioniques ou cationique selon la charge de la partie polaire.

- Tensioactifs amphotères : Ces tensioactifs ont à la fois une charge positive et négative. Ces tensioactifs ne sont pas utilisés comme émulsifiants, mais plutôt comme

détergents. Ils sont cationiques en milieu acide et anioniques en milieu alcalin. Ils sont utilisés dans la formulation de shampoings doux pour enfant ²⁰⁴.

- Tensioactifs non ioniques : leur forme est indépendante du pH. Ils possèdent une bonne activité détergente, leur pouvoir moussant est faible et ce sont les plus coûteux. Exemples : Alkylphénols éthoxylés, alcools éthoxylés, les glutamates...

6.1.1.2. Critères de choix des émulsifiants

Le choix du tensioactif convenable pour une formulation dépend de plusieurs critères ; la première règle est celle de Bancroft : il s'agit de disperser l'émulsifiant dans chacune des deux phases lipophile et hydrophile et voir sa compatibilité. La phase où l'émulsifiant est plus soluble sera la phase continue. Un émulsifiant lipophile comme un diglycéride d'acide gras est plutôt soluble dans l'huile. Par conséquent, la phase continue sera la phase huileuse et l'émulsion réalisée sera préférentiellement de nature eau dans l'huile (E/H) ²⁰⁶.

6.1.1.2.1 Balance hydrophile-lipophile (HLB)

Un autre critère détermine le choix de l'émulsifiant, il s'agit du HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance). C'est une grandeur adimensionnelle représentant le caractère hydrophile ou hydrophobe de l'émulsifiant à choisir.

L'échelle de cette grandeur allant de 0 à 20 pour les tensioactifs non ioniques : plus cette valeur est grande, la solubilité du tensioactif dans l'eau est grande sera importante ²⁰².

La valeur du HLB peut être déterminée en observant le comportement du tensioactif étudié lorsqu'il est mélangé dans l'eau, le Tableau XIX présente les valeurs du HLB ²⁰² selon la nature du mélange obtenu des émulsifiants mélangés dans l'eau.

Tableau XIX. Valeur de HLB après mélange du tensioactif dans l'eau

Nature du mélange	HLB
Deux phases séparées	1-3
Mélange grossier	3-6
Mélange laiteux peu stable	6-8
Mélange laiteux stable	9-10
Mélange opalescent	10-13
Mélange transparent	> 13

6.1.1.2.2 Utilisation du diagramme ternaire

Dans la formulation le diagramme ternaire ²⁰² nous permet d'obtenir une zone d'émulsion la plus stable. On fait des mélanges en proportions diverses ; on note les caractères des mélanges obtenus puis les résultats sont portés sur un triangle équilatéral (chaque côté du triangle est gradué et orienté pour donner le pourcentage massique d'un des trois composants), dont chaque point de la surface correspond à des proportions bien définies des trois constituants (en traçant les parallèles d'un point de cette zone et on obtient les proportions correspondantes).

Partie II: Matériels et Méthodes

Chapitre 1. : Analyses physicochimiques des extraits du *Zizyphus lotus*

Ce chapitre décrit les caractéristiques morphométriques de la plante étudiée et les méthodes d'extraction de l'huile du *Zizyphus lotus* ainsi que les paramètres physico-chimiques et la composition de cette huile.

1. Matériel végétal :

1.1. Choix du matériel végétal

La Figure 15 représente les différentes parties des fruits du *Zizyphus lotus*. Dans cette étude, la matière première que nous avons choisie pour extraire de nouvelles huiles végétales non conventionnelles sont les amandes des fruits du *Zizyphus lotus*.

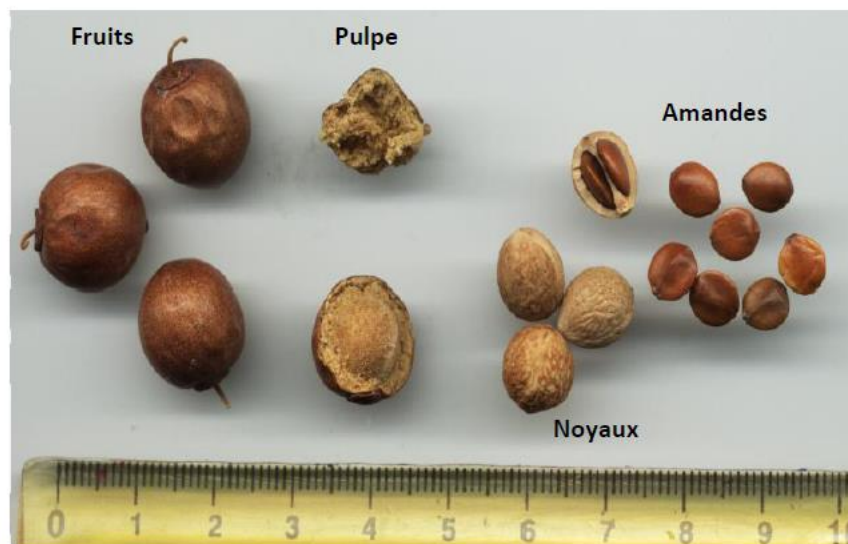


Figure 15. Représentation des différentes parties des fruits du *Zizyphus lotus*

1.2. Lieu de la récolte

La récolte a été effectuée dans la région de Khouribga (région Khenifra-Béni Mellal) situé à l'ouest de la région de Chaouia pendant le mois d'août-septembre 2016.

1.3. Séchage de la matière végétale

Les fruits ont été séchés à l'abri du soleil à température ambiante durant 15 jours. Ensuite les graines sont séparées des fruits.

1.4. Broyage

Afin de séparer la pulpe du grain, le fruit est placé dans un broyeur. Les grains sont ainsi séparés de la pulpe.

1.5. Concassage

Par un moyen mécanique, l'enveloppe des grains est écrasée et les amandes obtenues sont séparées de leur enveloppe.

1.6. Broyage des amandes

Le broyage des amandes a été effectué au moyen d'un broyeur électrique.

1.7. Le taux d'humidité :

Les rendements des huiles extraites obtenues sont exprimés par rapport à la matière sèche. Pour ce faire, nous avons procédé parallèlement à la détermination de la teneur en eau du matériel végétal. On pèse une prise d'essai de 2,003 g de poudre des amandes de *Zizyphus lotus* que l'on sèche à l'étuve préalablement chauffée à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 4 heures (temps nécessaire pour que le poids du matériel végétal à sécher reste constant). La détermination de la masse de la prise d'essai après étuvage est effectuée après refroidissement de la poudre des amandes dans un dessiccateur préalablement préparé.

Pour ce test l'essai est répété trois fois. L'humidité est calculée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100$$

m₀ : masse de l'échantillon avant le séchage,

m : masse de l'échantillon après le séchage

% H : taux d'humidité.

2. Méthodes

2.1. Extraction

L'huile du *Zizyphus lotus* a été obtenue par trois méthodes d'extraction : Par décoction, par pression mécanique à froid et par soxhlet.

2.1.1. Extraction des amandes par décoction

100g de la poudre des amandes sont introduits dans un ballon rodé d'un litre auquel sont ajoutés 400 mL d'hexane. Le mélange est chauffé au reflux pendant 20 min puis laissé sous agitation magnétique à température ambiante durant 48 heures. Le mélange est ensuite filtré, puis le filtrat obtenu est évaporé sous vide afin d'éliminer l'hexane.

L'huile obtenue est pesée puis le rendement d'extraction est déterminé. La Figure 16 résume les étapes de cette extraction.

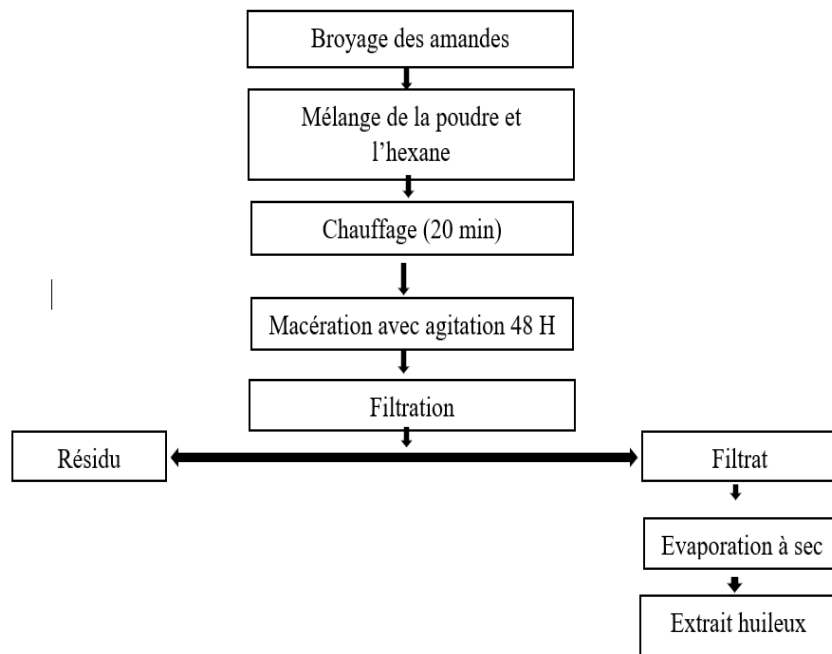


Figure 16. Procédé d'extraction de l'huile de *Zizyphus lotus* par décoction

Le rendement (Rdt) de l'extraction est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = \frac{m}{m_0} \times \frac{100}{100 - H}$$

Rdt : Rendement en huile extraite (en masse d'huile par 100 g de la matière sèche).

m_0 : la masse d'huile obtenue (g)

m : Prise d'essai initiale du matériel végétal (g)

H : Taux d'humidité.

2.1.2. Extraction par soxhlet

Le Soxhlet est un appareil couramment utilisé pour l'extraction des lipides. Ce type d'extraction permet le traitement de solides de toutes tailles, avec des solvants chauds en phase

liquide. Le principe consiste à introduire la poudre de la plante (100g) dans la cartouche d'extraction Whatman, ensuite cette dernière est placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant (Figure 17).

En premier lieu, on verse 600 ml d'hexane dans le ballon et on le porte à ébullition. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant. Il tombe alors dans le réservoir contenant la cartouche et solubilise la substance à extraire. Après plusieurs cycles, le solvant s'enrichit en substances solubles. Ensuite, la solution obtenue s'est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif ce qui permet l'obtention de la fraction huileuse. L'extrait huileux est ensuite séché puis pesé afin de déterminer le rendement de l'extraction.



Figure 17. Montage d'extraction par soxhlet

2.1.3. Extraction par pression mécanique à froid

L'extracteur utilisé dans cette étude est un extracteur électrique (Figure 19). Un entonnoir permet d'introduire les amandes au niveau de l'extracteur. Ensuite, les amandes sont légèrement préchauffées. Le processus de l'extraction consiste à une pression, obtenue par réduction progressive du volume engendré par la rotation de la vis dans une cage constituée de barreaux espacés, ce qui permet le passage de l'huile. Le tourteau s'échappe en fin de vis. A sa sortie de la presse, l'huile brute obtenue est ensuite filtrée afin d'éliminer les particules fines de la poudre. L'huile est ensuite placée dans un flacon en verre propre et stérile pour un ultime usage. La Figure 18 résume les étapes de cette extraction.

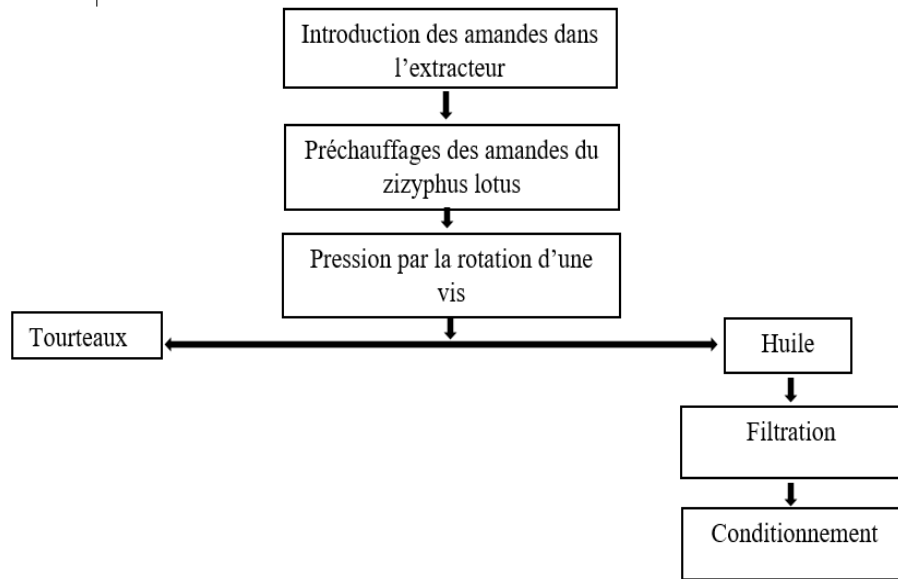


Figure 18. Schéma du procédé d'extraction de l'huile par pression



Figure 19. Extracteur électrique d'huile « OLEUM »

3. Caractérisation physico-chimique et composition chimique de l'huile du *Zizyphus lotus*

3.1. Introduction

Cette étude concerne l'analyse des paramètres de qualité de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus* en particulier l'indice d'acide, l'indice de réfraction, l'indice de peroxyde, l'indice de saponification et l'indice d'iode. Ainsi que la composition chimique en acide gras et en stérols par chromatographie en phase gazeuse (CPG), et la composition en tocophérols par HPLC.

3.2. Paramètres physico-chimiques des huiles végétales obtenues

Ces paramètres sont déterminés afin de caractériser l'huile végétale obtenue.

3.2.1. Indice de réfraction :

3.2.1.1. Principe

L'indice de réfraction noté n_D^T (T : température de mesure et D raie de sodium) est le rapport entre la vitesse de la célérité c de la lumière dans le vide sur la vitesse v de celle-ci dans le produit obtenu transparent. Pratiquement cette mesure se fait à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe essentiellement avec les composés liquides.

3.2.1.2. Le mode opératoire :

La détermination de l'indice de réfraction s'effectue en deux étapes :

À l'aide d'un compte-goutte, on étale quelques gouttes de l'huile obtenue sur une fenêtre sur laquelle est ensuite positionné un prisme et la lampe d'éclairage à vapeur de sodium. Le principe est de centrer dans un oculaire deux zones une sombre et une claire par rapport à l'intersection de deux diagonales fixes, ce faisant avec une molette latérale actionnée manuellement.

3.2.2. Indice de saponification :

3.2.2.1. Principe

L'indice de saponification d'un corps gras est la masse nécessaire de l'hydroxyde de potassium KOH exprimé en milligrammes pour neutraliser les acides gras provenant de l'hydrolyse de 1g de ce corps gras. Il indique la quantité d'acides gras totaux présents dans ce corps gras.

Il s'agit d'un dosage en retour. On fait réagir à chaud une solution d'acides gras avec un excès d'une solution d'hydroxyde de potassium (KOH). Cet excès est ensuite dosé en retour par une solution d'acide chlorhydrique de normalité connue selon le mode opératoire suivant :

- On pèse un 1g d'huile dans un ballon rodé,
- On ajoute 25ml de KOH à 0,5N (mol /L) et on adopte le mélange contenu dans le ballon à un réfrigérant et on laisse à ébullition pendant une heure ;
- Après refroidissement du ballon, on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine ;

- On titre par une solution de HCl à 0,5N jusqu'à la disparition de la couleur rose et la réapparition de la couleur initiale du mélange et on effectue dans les mêmes conditions un essai à blanc.

L'indice de saponification est donné par la formule suivante:

$$I_s = \frac{(V_b - V_e) \times N \times MM}{m}$$

I_s : l'indice de saponification (mg/g).

V_b : le volume de la solution de HCl titrant le blanc (mL)

V_e : le volume de la solution de HCl titrant l'échantillon (mL)

N : la normalité de la solution d'acide chlorhydrique

MM : la masse molaire de KOH : 56,1 g/mol

m : la masse de la prise d'essai de l'huile (g).

3.2.3. Indice d'iode

3.2.3.1. Principe

L'indice d'iode nous renseigne sur le degré d'insaturation de l'huile, Il est déterminé par dosage des doubles liaisons par du diiode, et correspond alors à la masse de diiode, exprimée en gramme, fixée pour 100 g de corps gras ¹⁰³.

3.2.3.2. Mode opératoire

On pèse avec précision une prise d'essai de l'échantillon d'huile environ 0,2 g que l'on met dans un ballon de 500 mL.

On ajoute 10 mL de chloroforme (CHCl_3) dans le ballon qui contient l'huile et aussi dans un autre ballon pour effectuer un dosage témoin.

- Ensuite, on ajoute 25 mL du réactif de Wijs dans chaque ballon et on laisse reposer à l'obscurité pendant 45 minutes.

- Une solution d'iodure de potassium et de l'eau sont ajoutées au mélange puis on titre le diiode libéré par une solution de thiosulfate de sodium et on continue le dosage jusqu'à ce que la coloration bleue produite par l'empois d'amidon et le reste de diiode disparaisse.

L'indice d'iode (I_i) est calculé selon la formule suivante :

$$Ii = \frac{(Vb - Vt) \times Mt \times MI2 \times 100}{Me}$$

Vb : Volume de la solution du thiosulfate (mL) pour doser le témoin.

Vt : Volume de la solution du thiosulfate (mL) pour doser l'échantillon.

Mt : Molarité du thiosulfate (mmol de thiosulfate/ mL de solution).

MI2 : Masse molaire de l'iode (0,1269 g / mmol).

Me : Masse de l'échantillon (g)

3.2.4. Indice d'acide

3.2.4.1. Principe

L'indice d'acide (I_a) correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme de corps gras.

3.2.4.2. Mode opératoire

- La détermination de l'indice d'acide se fait par titration de potasse suivant les étapes suivantes :
- On dissout 0,5 g de l'huile dans le mélange éthanol / éther diéthylique (1 :1V/V) puis on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine.
- La solution de l'extrait obtenue est titrée par une solution d'hydroxyde de potassium 0,1 N.

L'indice d'acide (I_a) est donné par la formule suivante :

$$Ia = \frac{V \times N \times MM}{m}$$

Ia : l'indice d'acidité (mg/g)

V : le volume de la solution KOH (mL) nécessaire à la neutralisation des acides gras libres (mL).

N : la normalité de la solution de KOH.

MM : la masse molaire de KOH : 56,1 g.mol⁻¹.

m : la masse de l'échantillon d'huile (g).

3.2.5. Indice d'ester

L'indice d'ester d'un lipide est la masse d'hydroxyde de potassium, exprimé en milligrammes, nécessaire pour saponifier les acides gras estérifiés contenus dans un gramme de corps gras. L'indice d'ester est égal à l'indice de saponification pour les glycérides purs.

L'indice de saponification est lié aux autres indices, comme l'indice d'acidité (Ia) et l'indice d'ester (Ie), par la relation :

$$Ie = Is - Ia$$

La quantité de potasse KOH utilisée dans la mesure d'Is varie avec la masse molaire des acides gras. Plus la masse molaire est élevée, plus l'indice de saponification est faible.

3.2.6. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde donne une évaluation sur la quantité de peroxydes présents dans une prise d'essai d'huile. C'est ce qui indique en fait la quantité d'acide gras déjà rance.

L'indice de peroxyde est le nombre de milliéquivalent d'oxygène actif contenu dans un gramme d'huile réagissant avec l'iodure de potassium (KI) en libérant une quantité d'iode correspondante.

3.2.6.1. Principe

Une prise d'essai d'huile dissoute dans un mélange de solvant anhydre (chloroforme, acide acétique) est mise en contact avec un excès d'iodure de potassium, puis l'iode libéré est dosé par une solution de thiosulfate de sodium.



3.2.6.2. Mode opératoire

Une prise d'essai d'huile de 2g, 10 mL de chloroforme et 15 mL d'acide acétique préalablement dégazés sont introduits dans un erlenmeyer de 250 ml, puis 1mL d'iodure de potassium est ajouté. Le mélange réactionnel obtenu est placé à l'obscurité pendant 5 minutes, après 75 mL d'eau distillée sont ajoutés. Le mélange est abandonné sous agitation. Enfin, on ajoute quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur coloré et l'on titre l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium 0,01N. Parallèlement le dosage d'un blanc est effectué.

3.2.6.3. Expression des résultats

L'indice de peroxyde (Ip) exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kg d'échantillon est égal à :

$$I_p = \frac{(V_1 - V_0) \times N}{m} \times 1000$$

V₀ : Volume en millilitres, de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

V₁ : Volume en millilitres de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisé dans le titrage.

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

m : masse en gramme de la prise d'essai.

3.2.7. La densité

Appelée également poids spécifique ou masse volumique, c'est le rapport du poids d'un certain volume du corps gras, au poids d'un même volume d'eau.

Il est à noter que la densité d'une huile végétale doit être toujours inférieure à 1 ; elle est en fonction non seulement de l'insaturation mais aussi de l'oxydation ou de polymérisation²⁰⁷.

3.2.7.1. Principe

La densité est déterminée par la mesure de la masse, à température ambiante, d'un volume de corps gras contenu dans le pycnomètre préalablement étalonné à la même température. Elle est exprimée en gramme par mL ou en kilogramme par litre.

3.2.7.2. Indice de fumée

Le point de fumée est la température à partir de laquelle les huiles ou les graisses émettent des fumées de façon continue²⁰⁸.

3.2.7.3. Mode opératoire

Dans un tube à essai menu d'un thermomètre, on introduit une prise d'essai d'huile de 2 mL. L'huile est chauffée jusqu'à ce qu'on observe le dégagement de la fumée. La température est ensuite notée.

3.3. Analyse de la composition chimique des huiles du *Zizyphus lotus*

3.3.1. Détermination de la composition chimique en acides gras de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus*

Les esters méthyliques des acides gras sont obtenus par méthanolyse des glycérides et des acides gras libres en milieu alcalin ²⁰⁹. Dans un ballon tricol rodé on introduit 100 à 250 mg de l'huile diluée dans 4 mL d'une solution méthanolique de KOH 0,5 N. Le mélange est porté à reflux pendant 5 à 10 min, puis 5 mL de solution méthanolique de trifluorure de Bore (BF₃) (12 à 15% m/m) sont ajoutés. On poursuit l'ébullition pendant 2 min et on rajoute 5 mL en maintenant l'ébullition pendant une minute. On arrête le chauffage et on ajoute au mélange obtenu une solution saturée de chlorure de sodium. Après décantation, on transfère environ 1 mL de la couche supérieure dans un tube à essai auquel on ajoute du sulfate de sodium anhydre pour éliminer les traces d'eau et on procède à une dilution par 10 avant injection pour analyse par CPG.

3.3.1.1. Conditions opératoires de l'analyse des acides gras

Pour déterminer la composition en acides gras, 1 µL d'une solution hexanique d'esters méthyliques a été injectée dans un chromatographe CLarus 580 GC_G12086 équipé d'une colonne de type PFloW-N2 dont les caractéristiques sont :

- La longueur de 30m, le diamètre interne de 0,32 mm et un film d'épaisseur 0,25µm,
 - L'injecteur était en mode split, ratio 1/80 à la température de 260°C,
 - Le gaz vecteur était l'hélium de débit 1,5 mL/mn,
 - La température du détecteur à ionisation de flamme est maintenue à 280°C,
 - La programmation de la température du four était la suivante : 100°C pendant 2 mn suivi d'une augmentation de 6°C/mn jusqu'à 240°C,
- L'identification des pics a été faite par comparaison des temps de rétention d'esters méthyliques d'acides gras d'huiles végétales comme l'huile d'olive, l'huile de tournesol et l'huile de palme, injectées dans les mêmes conditions opératoires. Chaque injection était reprise trois fois dans les mêmes conditions opératoires.

3.3.2. Détermination de la teneur en insaponifiable de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus*.

L'insaponifiable représente les constituants qui ne réagissent pas avec les bases fortes pour donner des savons très peu solubles dans l'eau, mais qui après saponification sont solubles dans les solvants classiques des corps gras (Hexane, éther de pétrole ...) ²⁰⁷.

Le mode opératoire adopté pour l'extraction et du dosage de l'insaponifiable est celui du Règlement (CEE) N° 2568/91 ²⁰⁹.

3.3.2.1. *Extraction*

La partie insaponifiable est déterminée par une prise d'essai de 5g d'huile et 50mL d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium KOH (1N) qui sont portés à ébullition dans un ballon de 250 mL équipé d'un réfrigérant à reflux. Après une heure d'ébullition, on ajoute 100 mL d'eau distillée. Après refroidissement, on transvase la solution dans une ampoule à décanter de 250 mL, on rince le ballon avec 100 mL d'éther éthylique et on agite vigoureusement pendant que le contenu est légèrement chaud ²⁰⁹.

On laisse le mélange à décanter puis on prélève la phase hydroalcoolique et on refait l'extraction 2 fois avec 50 mL d'éther.

3.3.2.2. *Dosage de l'insaponifiable*

Les fractions étherées sont réunies dans une ampoule et sont lavées 2 ou 3 fois avec 40 mL d'eau distillée jusqu'à ce que l'eau de lavage ne donne plus de coloration rose avec de la phénolphthaléine. La solution étherée de l'insaponifiable est transvasée dans un ballon et le solvant est évaporé sous pression réduite. Ensuite, on récupère avec un minimum d'éther l'insaponifiable dans une capsule préalablement séchée et tarée, laquelle est placée dans une étuve à 100°C jusqu'au poids constant ²⁰⁹.

La teneur en insaponifiable est déterminée par la formule suivante :

$$Ti(\%) = \frac{\text{Masse de la matière insaponifiable} * 100}{\text{Masse d'huile}}$$

3.3.3. Détermination de la composition chimique en tocophérols

La détermination de la teneur en tocophérols de l'huile obtenue des amandes du *Zizyphus lotus* a été effectuée par la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase normale ²¹⁰.

Une solution de 20 mg d'huile par mL d'hexane et d'isooctane (99%) /2-propanol (1 %) a été filtrée à l'aide d'un filtre millipore de diamètre 0,45µm. L'appareil et ses accessoires (pompe, injecteur, détecteur) sont de marque Dionex RS 2000. L'injecteur manuel est muni d'une boucle d'injection de 20 µL et un détecteur fluorimétrique. La colonne de phase stationnaire est de type C18, 5µm, 4,6x250mm « K. romasil100 SIL ». Le mélange de solvants dans les conditions isocratiques était composé d'hexane et d'isopropanol pour CLHP (99:1, % v:v). Le débit de l'éluant était de 1 mL/min et la pression de 33 bars avec un détecteur fluorimétrique dans la longueur d'onde allant de 290 à 330 nm. Les pics ont été identifiés par injection de standards de tocophérols (produits Sigma aldrich). Les courbes d'étalonnage étaient tracées en procédant à une gamme de dilution de 0,3 à 8 µL/mL.

3.3.4. Détermination de la composition chimique en stérols totaux

3.3.4.1. Préparation de la fraction stérolique

Pour déterminer les stérols totaux, 0,5g d'huile, sont ajoutés à un mélange de 1mL de cholestérol et 5mL d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium précédemment introduits dans un ballon rodé de 50 mL en présence de 2 grains de pierre ponce. Le mélange réactionnel obtenu est porté à reflux pendant 15 min, puis 5mL d'éthanol sont alors introduits dans le ballon par le haut du réfrigérant. Après refroidissement, ce mélange est introduit dans une colonne de chromatographie remplie d'oxyde d'aluminium ($0,063 < I < 0,2\text{mm}$). Les éluations ont été faites successivement avec 5mL d'éthanol et 30 mL de diéthyléther. Le solvant est ensuite évaporé et la fraction stérolique obtenue est dissoute dans 1mL de chloroforme.

3.3.4.2. CCM préparative de la fraction stérolique

20 µL d'une solution étalon de cholestérol et 400 µL de la fraction insaponifiable de l'huile obtenue ont été successivement déposés à l'aide d'un déposeur Linomat IV-Y CAMAG (Merck, Réf. 022-786) sur une plaque de silice 60 (Alltech, 20 x 10 cm, 250µm d'épaisseur). L'éluution était faite par un mélange chloroforme/diéthyléther (90/10, %v/v). La partie contenant le dépôt de cholestérol a été révélée par nébulisation d'un mélange $\text{Cu}^{++}/\text{H}_3\text{PO}_4$ (1/1, %v/v) et un passage au four à 180°C pendant 10 min. La bande de stérols correspondant au spot de cholestérol a été grattée et les stérols ont été récupérés dans du chloroforme (10 mL/g de silice) à température ambiante sous agitation magnétique durant 5min. Une fois la silice est devenue transparente, une filtration sur filtre millipore (0,45µm, Réf. SLFH 013 NL) a permis de récupérer les stérols totaux sans contaminant solide.

3.3.4.3. Détermination de la composition en stérols

1 μ L de cette fraction stérolique a été injecté pour déterminer la teneur en stérols de l'huile. L'analyse des stérols a été faite selon des conditions isothermes (280°C) dans un chromatographe GC6890 équipé :

- D'une colonne de type Agilent 19091J-413, (Colonne : 30m de longueur, 0,25mm de diamètre interne et 0,25 μ m d'épaisseur de film).
- La température du détecteur à ionisation de flamme est maintenue à 300°C et celle de l'injecteur en mode split, ratio 1/100 à 325°C.
- Le gaz vecteur était l'hélium de débit 2,0 mL/min.

Pour identifier les pics, nous avons injecté des standards de cholestérol, de β -sitostérol et de stigmastérol (produits de qualité Sigma, concentration de 1mg/mL). Afin de vérifier la reproductibilité des résultats, chaque injection a été reprise trois fois dans les mêmes conditions opératoires. Les teneurs des stérols totaux ont été calculées selon la formule suivante :

$$\text{Sterols totaux (mg/g)} = \sum \left(\frac{(\text{Ax. ms. K. 100})}{\text{As. m}} \right)$$

A_x = Aire du pic du stérol X (échantillon)

A_s = aire du pic de cholestérol standard

m_s = masse de cholestérol standard ajouté

m = masse d'huile

K = facteur de réponse du stérol calculé en fonction de l'aire de l'étalon interne pour une concentration identique.

Chapitre 2. Analyse qualitative des composés phénoliques et méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits du *Zizyphus lotus*

1. Introduction

La famille des polyphénols représente le point de départ de toutes les recherches scientifiques en particulier la découverte des molécules naturelles à très forte activité antioxydante ²¹¹. Dans ce contexte de recherche des antioxydants naturels, nous nous sommes intéressés d'évaluer quelques propriétés antioxydantes de deux extraits des amandes et de la pulpe du *Zizyphus lotus*, obtenus au moyen de l'éthanol.

Dans notre étude, le dosage des polyphénols a été déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu Sangleton ²¹², alors que la détermination du taux des flavonoïdes totaux des extraits de deux parties du *Zizyphus lotus* est réalisée par la méthode décrite par Zhichen et al.1999 ²¹³ et la mise en évidence de l'activité antioxydante a été effectuée par la technique du piégeage du radical libre DPPH• ^{214 215 216}et par la méthode FRAP.

2. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

2.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des phénols totaux a été effectué selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$).

Cette réaction se fait dans des conditions basiques (pH=10) qui est atteintes par l'ajout de carbonate de sodium. La perte d'un proton phénolique conduit à la formation d'un ion phénolate, qui est capable de réduire le réactif de Folin-Ciocalteu.

2.1.1. Mode opératoire

Chaque solution d'échantillon (0,5 mL) a été mélangée avec 2,5 mL d'une solution de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois), après 4 minutes de réaction, 2 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 (75 mg/mL) ont été ajoutés au mélange réactionnel qui est soumis à une incubation pendant deux heures. L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc. Trois essais ont été réalisés pour chaque échantillon.

La teneur en phénols totaux a été déterminée par l'étalon réalisé avec différentes concentrations d'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme de matière végétale sèche. La courbe d'étalonnage obtenue est présentée par la Figure 20:

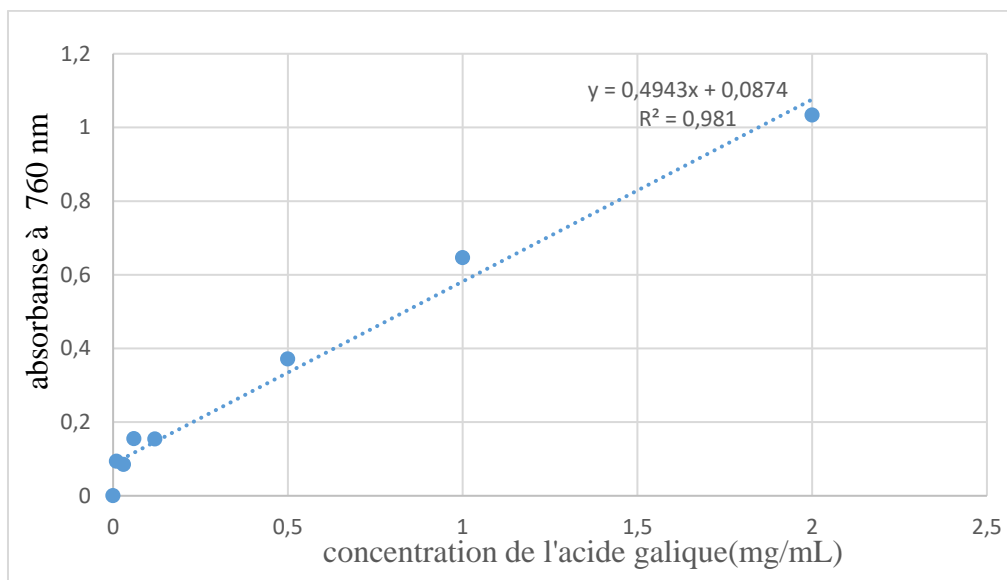


Figure 20 . Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

2.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la quantité des flavonoïdes des deux parties des fruits du *Zizyphus lotus* a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ²¹³. À 500 µL de l'extrait éthanolique des amandes et de la pulpe, sont mélangés avec 1500 µL d'eau distillée, et de 150 µL de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5%. Après 5 min, 150 µL de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% (m/v) est additionné au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500 µL d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1M, est ajouté au mélange. L'absorbance est déterminée à 510 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant du quercétine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la quercétine par gramme de la matière végétale sèche (mg EQ/g MS). La Figure 21 présente la courbe d'étalonnage de la quercétine.

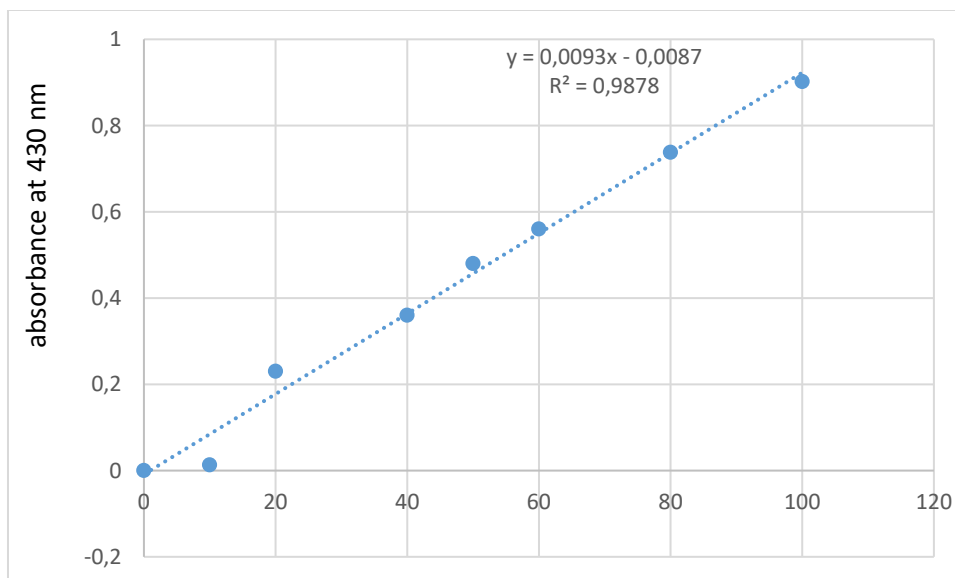


Figure 21 . Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes

3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits du *Zizyphus lotus*.

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques du *Zizyphus lotus* (pulpe et amandes) a été évalué par deux méthodes : la méthode DPPH et la méthode FRAP.

3.1. Etude de l'activité antioxydante par la méthode DPPH.

Le DPPH est une poudre d'une couleur violette foncée qui devient jaune en présence des molécules antiradicalaires. Le pouvoir antioxydant des extraits du *Zizyphus lotus* a été étudié selon la procédure décrite par Sanchez-Moreno et al. ²¹⁷. Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait éthanolique du *Zizyphus lotus* est ajouté à 1,6 mL de la solution méthanolique du DPPH* (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) préparée à l'avance (au moins 1 à 2 heures) et conservée à l'obscurité à 4°C. Chaque concentration est distribuée en triplicata sur une microplaque de 96 puits. Le contrôle négatif est préparé en parallèle en mélangeant 50 µL du méthanol avec 1,6 mL d'une solution méthanolique de DPPH*. Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à température ambiante, la lecture des absorbances a été faite à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

3.1.1. Détermination du pourcentage d'inhibition

L'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) est calculée en utilisant la formule suivante :

$$I \% = \frac{Abs_{blanc} - Abs_{écht}}{Abs_{blanc}} \times 100$$

Abs_{échant} : absorbance de l'échantillon.

Abs_{blanc} : absorbance contrôle négatif.

Tous les essais ont été effectués trois fois.

Les concentrations des extraits du *Zizyphus lotus* et en acide ascorbique, en fonction des pourcentages du DPPH^{*} inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir la concentration efficace IC₅₀. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH^{*} initiale de 50% ; il est obtenu en traçant le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations utilisées. Quand l'IC₅₀ est petit, l'activité est grande.

3.1.2. Détermination du temps d'équilibre TEC₅₀

Le paramètre TEC₅₀ est défini comme le temps atteint à l'équilibre avec une concentration d'antioxydant égale à IC₅₀. Ce temps est déterminé graphiquement ²¹⁸.

3.1.3. Détermination de l'efficacité anti-radicalaire EA

Les deux facteurs IC₅₀ et TEC₅₀ peuvent être combinés afin d'obtenir le paramètre d'efficacité antiradicalaire suivant la relation ²¹⁹ :

$$EA = \frac{1}{IC_{50} \times TEC_{50}}$$

3.2. Étude de l'activité antioxydante par la méthode FRAP

Cette technique se base sur la mesure de la puissance des substances des extraits à réduire le fer ferrique Fe³⁺ en fer ferreux Fe²⁺ qui est l'un des mécanismes antioxydants. C'est une technique rapide, facile et reproductible ²²⁰. La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle ²²¹. L'augmentation des absorbances des échantillons testés correspond à l'augmentation du pouvoir antioxydant ²²². Le mode opératoire adopté est celui de Karagözler et al. ²²⁰. 1 mL de chaque échantillon à différentes concentrations dilué dans l'eau distillée est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate (0,2 M ; pH : 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe (CN)₆ à 1 %, puis on incube les tubes à 50 °C durant 20 minutes. Après refroidissement des tubes à température ambiante, 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10 % est ajouté pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min durant 10 min. 2,5 mL du surnageant est prélevé auquel nous ajoutons 2,5 mL d'eau distillée. Puis nous ajoutons au mélange 500 µL d'une solution de chlorure de fer (FeCl₃, 6H₂O) à 0,1 % fraîchement préparée.

La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre « optic ivymen system 2100-c ». L'acide ascorbique et le butyl-hydroxy-toluène (BHT) sont utilisés comme standard dont les absorbances ont été mesurées dans les mêmes conditions.

Chapitre 3. Valeur nutritionnelle des amandes et de la pulpe du *Zizyphus lotus*

1. Dosage de la matière minérale totale

Cette méthode est utilisée pour déterminer la teneur en matière minérale ²²³ contenue dans un échantillon. Le pourcentage de la matière minérale totale est obtenu après calcination de 5 g de la matière végétale en poudre dans un four porté à 550 °C pendant 4 heures. Après le refroidissement dans un dessiccateur, la pesée différentielle avant et après calcination permet de déterminer le taux de matières minérales de l'échantillon :

$$\%MM = \frac{M_1}{M_0 - H} \times 100$$

M₀ : poids de l'échantillon,

H : humidité

M₁ : poids de la matière minérale obtenue après calcination.

2. Dosage des éléments minéraux par spectrométrie à plasma à couplage inductif ICP

L'analyse de la composition minérale des deux parties du *Zizyphus lotus* a été effectuée par spectrométrie d'émission atomique ICP-AES au CNRST (Rabat).

La méthode consiste à ioniser l'échantillon en l'injectant dans un plasma d'argon, ou parfois d'hélium, c'est-à-dire que les atomes de la matière à analyser sont transformés en ions par une sorte de flamme extrêmement chaude (environ 10 000 K).

L'échantillon pénètre généralement dans le plasma sous une forme condensée (liquide ou solide), et doit donc subir les changements d'état suivants : fusion (pour les solides), vaporisation, ionisation.

La minéralisation a été réalisée en utilisant 2 mL d'acide nitrique (70%), 3 mL d'acide fluorhydrique et de 2 mL d'acide chlorhydrique. Le mélange est ensuite chauffé à environ 100 à 110 °C pendant 75 minutes. Après refroidissement, 25 mL d'une solution de HCl (2M) ont été ajoutés au mélange. Le taux des minéraux a été déterminé en utilisant un plasma de spectromètre d'émission atomique à couplage inductif (Ultima 2 – JobinYvon) (Figure 22).



Figure 22 . Appareil ICP-AES

3. Dosage des sucres totaux par HPLC

3.1. Préparation des solutions étalons

Une solution constituée par un mélange de glucose, fructose, saccharose, maltose et lactose a été préparée avec une concentration de 4g/L²²⁴.

Préparation de la solution échantillon 1g de la poudre des amandes est placé dans un ballon de 50 mL. 40 mL d'eau distillée et quelques pierres ponce y sont ajoutés. L'ensemble est porté à ébullition pendant 30 minutes. La solution est refroidie jusqu'à une température de 25°C. L'extraction est répétée trois fois.

L'extrait est filtré sur papier filtre puis le filtrat obtenu est passé par un micro filtre 0,45µm. Le filtrat obtenu est mis dans une éprouvette de 50 mL qu'on complète avec de l'eau distillée. La solution est ensuite purifiée sur une cartouche C18. Un volume exact de 1 mL de l'extrait est récupéré dans des fioles de 25 mL complétée par de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Les solutions contenues dans les fioles sont filtrées puis injectées en CLHP²²⁴.

3.2. Analyse et identification

Un volume de 20µL de chaque solution est injecté dans le système CLHP. La séparation des composés a été réalisée sur une colonne silice greffe avec NH₂ d'une longueur de 25 cm, et d'un diamètre interne de 4,6 mm. L'échantillon traverse une colonne remplie d'une phase stationnaire, entraîné par un solvant vecteur (Eau 20%-Acétonitrile 80%) pendant 30 minutes

avec un débit de 1mL/min. Les principes actifs de l'échantillon migrent de façon différentielle en fonction de leur hydrophobicité.

3.3. Dosage des protéines

Les protéines sont déterminées selon le principe de Kjeldahl ²²⁵. Dans la procédure de Kjeldahl, les protéines et autres composants alimentaires d'un échantillon sont digérés avec de l'acide sulfurique en présence de catalyseurs. L'azote est converti en sulfate d'ammonium. Le digest est neutralisé avec un alcali et distillé dans une solution d'acide borique. Les anions borates formés sont titrés avec de l'acide standardisé, qui est converti en azote dans l'échantillon. Le résultat de l'analyse représente la teneur en protéines brutes des aliments, l'azote provient également de composants non protéiques. La méthode se déroule en trois étapes : digestion, neutralisation et distillation, et enfin titrage ²²⁶.

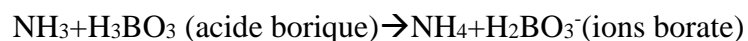
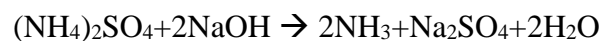
3.3.1. Digestion

L'échantillon (pesé avec précision) est placé dans une fiole. Ensuite, le catalyseur et l'acide sont ajoutés ; la digestion se déroule jusqu'à une dégradation totale de toute matière organique. Le sulfate d'ammonium est formé par la réaction d'azote et l'acide sulfurique.

Pendant la digestion, l'azote protéique est libéré pour se former les ions ammonium ; l'acide sulfurique oxyde la matière organique et se combine avec l'ammonium formé ; le carbone et les éléments hydrogènes sont convertis en dioxyde de carbone et de l'eau.

3.3.2. Neutralisation et distillation

Le digest est dilué avec de l'eau contenant des alcalis du thiosulfate de sodium est ajouté pour neutraliser l'acide. L'ammoniac formé est distillé en solution d'acide borique contenant les indicateurs bleus de méthylène et rouge de méthyle.



3.3.3. Titrage

L'Anion borate (proportionnel à la quantité d'azote) est titré avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) standardisé.

3.3.4. Calcul du taux de protéines :

Un blanc de réactif doit être exécuté pour soustraire le réactif de l'azote de l'échantillon.

$$\%N = NHCl \times \frac{14gN}{mol} \times \frac{Volume\ d'acide\ corrigé}{masse\ d'échantillon(g) \times 1000} \times 100/100$$

Où : $NHCl$ = normalité de HCl en mol/L

Volume d'acide corrigé = (V acide pour échantillon(mL)) – (V (acide pour le blanc) (mL))

14 = masse atomique de l'azote.

Un facteur est utilisé pour convertir le pourcentage N en pourcentage protéine brute. La plupart des protéines contiennent 16% de N, le facteur de conversion est de 6,25 ($100/16 = 6,25$)²²⁶.

$$Protéines\ \% = \frac{\%N}{0,16}$$

4. Détermination de la teneur en caroténoïdes dans l'huile du *Zizyphus lotus*

La couleur des huiles végétales représente un paramètre très important pour la détermination de leur qualité. Ces couleurs, nous indiquent la présence des pigments colorés (caroténoïdes, xanthophylles...).

Les caroténoïdes sont des hydrocarbures fortement insaturés, de couleur jaune à l'orange. Ils comprennent les carotènes et les xanthophylle²²⁷. Des études ont montré que les caroténoïdes (β carotène), absorbent dans le bleu et un peu dans le vert²²⁸ avec un maximum autour de 420, 440 et 460 nm. Ainsi, la détermination de la teneur en ces pigments dans l'huile du *Zizyphus lotus* sera basée sur une méthode spectrophotométrique. L'absorption à 470 nm est relative à la fraction des caroténoïdes²⁰⁹.

Une prise de 7,5 grammes est introduite dans une fiole jaugée de 25 ml qui sera remplie au trait de repère par du cyclohexane de la solution de matière grasse obtenue est mesurée par rapport à celle du solvant à 470 nm. La teneur en carotènes est déterminée par la formule suivante²⁰⁹ :

$$Carotène(PPM) = \frac{A_{470} \times 25 \times 10000}{2000 \times 7,5}$$

5. Dosage de la provitamine A

La détermination de la teneur en provitamine A a été déterminer selon la technique décrite dans le document technique de l'OAOC²²⁹. À 1g de chaque échantillon ont été ajoutés

5 mL d'hexane. Après homogénéisation au vortex, chaque mélange a été centrifugé à 5312 tr/minute pendant 10 minutes. A 2 mL du surnageant recueilli et laissé évaporer à 40°C, 2 mL de propanol-2 ont été ajoutés. Ensuite, la quantité obtenue est mise dans une cuve, pour la lecture de la densité optique à 244 nm au spectrophotomètre. La mesure a été répétée 3 fois. La teneur en provitamine A (mg/100g) est déterminée à partir de l'équation de régression établie à l'aide de la gamme étalon selon la formule suivante ²³⁰ :

$$\text{Concentration} = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{PS}} \times \text{FD}$$

Où :

FD : facteur de dilution ;

PS : pente de la courbe du standard.

6. Dosage de la vitamine C

Le mode opératoire adopté est celui de Tchègnon, et al. 2017 ²²⁹. À 1 g de chaque échantillon a été ajouté 5 mL d'eau distillée. Après homogénéisation, le mélange a été centrifugé à 5312 tours/minutes. A 2 mL du surnageant recueilli, ont été ajouté 2mL d'eau distillée. La lecture a été effectuée au spectrophotomètre à la densité optique 265 nm. L'analyse a été reprise 3 fois. Les concentrations en vitamine C ont été exprimées en mg/100g selon la formule suivante :

$$\text{Concentration en vitamine C} = \frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{PS}} \times \text{FD}$$

Où :

FD : facteur de dilution ;

PS : pente de la courbe du standard.

Chapitre 4. Activité anti-microbienne

1. Introduction

Ce chapitre a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de l'éthanol, du butanol et d'acétate d'éthyle de la pulpe, des feuilles et des amandes du *Zizyphus lotus*. Cette activité a été déterminée suivant la méthode de diffusion dans un milieu solide.

2. Préparation du matériel végétal

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée sur les extraits de la pulpe, des feuilles et des amandes du *Zizyphus lotus*, récoltées au niveau de la ville Khouribga de la région de Khénifra-Beni Mellal durant le mois d'août- septembre 2018. Après la récolte, le fruit du *Zizyphus lotus* et les feuilles ont été séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 10 jours, puis transférées dans l'étuve à 50°C pour affiner le séchage. Ensuite, le matériel végétal est broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre et stockée à l'abri de lumière et de l'humidité jusqu'à l'extraction.

3. Préparation des solutions

3.1. Extraction

L'extraction est effectuée par épuisement du matériel végétal en utilisant des solvants à polarité croissante pour les feuilles du *Zizyphus lotus*. 100g de la poudre des feuilles a été mis dans 400 mL dans l'acétate d'éthyle. Le mélange est maintenu sous agitation pendant 24 heures à une température ambiante. Après macération, la solution obtenue a été filtrée plusieurs fois sur papier wattman N 03, et le filtrat est récupéré, ensuite évaporé dans un évaporateur rotatif. La même opération a été répétée avec 400 mL du butanol et d'éthanol. La poudre des amandes et de la pulpe a été macérée dans l'éthanol.

Cinq extraits ont été testés dans cette partie en particulier : extrait éthanolique des amandes (EEA) extrait éthanolique de la pulpe (EEP), extrait d'acétate d'éthyle des feuilles (EAeF), extrait butanolique des feuilles (EBF) et extraits éthanoliques des feuilles (EEF).

Les solutions des extraits sont préparées dans le Dimethyl sulfoxide (DMSO). Les dilutions sont préparées de façon à obtenir des concentrations au 1/2 et au 1/4 à partir de la solution mère.

3.2. Souches bactériennes

Trois souches bactériennes et une levure ont été choisies pour leur nocivité et leur résistance. Il s'agit des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme. Ces souches ont été fournies par l'Institut Pasteur de Casablanca, elles sont activées à 37 °C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH) pour déceler l'activité antibactérienne des extraits : Gram+ : Staphylococcus aureus, : Escherichia coli, Gram - : Pseudomonas aeruginosa et levure Candida albican.

3.3. Étude de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion par disque

La détermination du pouvoir antimicrobien des extraits de plantes a une grande influence sur les résultats. L'activité antimicrobienne in vitro d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, soit en milieu solide ou en milieu liquide. Dans cette étude, l'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits a été réalisée par la méthode de diffusion par disque sur le milieu gélosé Muller-Hinton.

3.3.1. Mode opératoire

Les colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau distillée stérile afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à celle de McFarland 0.5 (106 UFC/mL). Ensuite des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalement à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des microorganismes. Puis on dépose un disque stérile de papier Wattman de 6mm, à l'aide d'une pince stérile, sur les germes au tout début de leur croissance.

10µl de l'extrait y est ajouté ensuite. Deux contrôles négatifs contenant le DMSO et les solvants utilisés dans l'extraction et un témoin positif d'antibiotique sont également déposés.

Les diamètres des zones d'inhibition de croissance microbienne ont été mesurés, les moyennes calculées (l'opération est réalisée en triple) et les écart-types déterminés. Les extraits ayant présenté un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 12 mm ont été retenus pour la détermination de la CMI.

Pour déterminer la CMI, comme étant la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un micro-organisme après incubation ¹⁹⁴. Des dilutions successives au demi ont permis de préparer une gamme de dilution allant de 50 mg/mL

à 200mg/mL pour les extraits, en effet de chaque dilution on prélève 10 μ L et on la mit dans les disques qui sont déjà dans les boites de pétri et incubées 24h à 37°C.

Chapitre 5. Formulation des crèmes à partir de l'huile du *Zizyphus lotus*

1. Objectif de l'étude

Le but de cette étude est de préparer une crème hydratante en utilisant comme matière première l'huile du *Zizyphus lotus* extraite par pression mécanique en présence du beurre de Karité, et la cire d'abeille comme épaississant.

2. Cadre de l'étude :

C'est une étude principalement expérimentale qui a été effectuée au laboratoire des substances naturelles dans la faculté de Sciences et Technique de Settat.

3. Limites de notre étude

Certains contrôles étudiés dans la littérature et envisagés pour caractériser la crème n'ont pas pu être réalisés dans cette émulsion en raison de l'indisponibilité des équipements convenables :

- Étude de la stabilité à la chaleur et au froid.
- Étude rhéologique.
- La mesure précise de la taille des globules dispersés.

4. Matières premières

Les constituants utilisés dans la préparation de la crème à base de l'huile du *Zizyphus lotus* sont :

- L'huile du *Zizyphus lotus*,
- Le beurre de karité,
- L'eau distillée,
- Eau florale de lavande.
- L'extrait de pépin de pamplemousse (L'EPP),
- L'huile essentielle de lavande.

4.1. Matériels :

Les équipements utilisés dans cette formulation sont :

- Agitateur magnétique chauffant
- Bain marie.
- Verrerie et autres petits matériels : béchers, spatules et thermomètre.

5. Méthodologie

La formulation des crèmes à base de l'huile de *Zizyphus lotus* se déroule en plusieurs étapes :

- Stérilisation du matériel
- Préparation de la phase huileuse
- Préparation de la phase aqueuse.
- Préparation de l'émulsion.
- Conditionnement
- Analyse des propriétés physiques et chimique.
- Analyse de l'irritation cutanée.

6. Ingrédients utilisés :

Les ingrédients de l'émulsion sont :

- **La phase huileuse** qui se compose de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus* et du beurre de Karité.
- **La phase aqueuse** : il s'agit des eaux florales ou hydrolats ou des infusions correspondant à chaque type de peau et ses besoins.
- **Les émulsifiants** : qui aident à stabiliser les crèmes et les rendent onctueuses comme la cire d'abeille.
- **Conservateurs** : l'émulsion contient de l'eau, l'ajout du conservateur est nécessaire pour assurer la durabilité de la crème formulée et lutter contre sa dégradation microbologique (extrait de pépin de pamplemousse : EPP).

7. Mode opératoire de la formulation :

1. Les ingrédients de la phase huileuse et l'émulsifiant sont mis dans un bécher et sont fondus au bain- marie, en remuant à l'aide d'une spatule de façon à bien mélanger les ingrédients.
2. Quand le mélange est devenu homogène et les deux phases ont la même température, on incorpore la phase aqueuse, le mélange obtenu se transforme

progressivement en lait puis en crème, et le mélange est mis sous agitation continue pendant 20 minutes.

3. Une fois la crème est réalisée on ajoute l'huile essentielle de lavande et le conservateur (extrait de pépin de pamplemousse).
4. A l'aide d'une spatule stérile on remplit les pots avec la crème obtenue en indiquant la date de fabrication et de péremption.

8. Évaluation de la qualité des crèmes

8.1. Détermination des caractéristiques organoleptiques de la crème

8.1.1. Détermination de la couleur

L'évaluation de la couleur de la crème est évaluée en se basant sur la gamme de couleur R-V-B fournie par le programme Microsoft Word. Au moyen de ce programme nous avons déterminé une combinaison de trois couleurs, le rouge R, le vert V et le bleu B, les composantes variant de 0 à 255. La crème obtenue a été mis face à face à l'écran, ensuite les combinaisons des chiffres ont été variées jusqu'à l'obtention de la couleur qui se rapproche le plus de l'émulsion. Les résultats obtenus sont exprimés sous forme d'intervalle de valeurs.

9. Études de stabilité des crèmes

Ce suivi consiste à évaluer la stabilité des crèmes et à observer, à intervalles réguliers (1 jour, 1 semaine, 2 semaines, 1 mois et 2 mois et 6 mois de conservations), l'évolution des propriétés organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques ainsi que l'apparition des phénomènes d'instabilité et de séparation des phases constituant l'émulsion.

Les paramètres organoleptiques évalués dans cette étude sont : la consistance, la couleur, l'odeur, l'apparition ou non de séparation de phases ²³¹.

9.1. Test d'irritation cutanée

Ce test s'effectue sur des lapins afin de déterminer l'indice d'irritation cutanée primaire pour les crèmes (ICPC). Cet indice doit être inférieur à 0,5²³².

La méthode est basée sur l'observation des réactions cutanées provoquées par l'application unique de la crème. Les animaux d'expérience sont des lapins albinos mâles, de souche définie, de 2,5 kg environ. Les animaux ont été séjournés dans l'animalerie en cage individuelle, une semaine au minimum afin d'être parfaitement acclimatés et reçoivent, dès leur arrivée, une alimentation de composition constante et équilibrée. ¹⁹¹

9.2. Protocole :

Le protocole se déroulait comme suit :

- Le nombre de lapins utilisés est de 3.
- Application de la crème testée sur la peau de l'animal pendant 4 heures consécutives sous patch occlusif.
- Les lectures sont faites pendant une heure ;24 heures et 48 heures après enlèvement du patch occlusif²³².

Partie III: Résultats et discussions

Chapitre 1. Caractérisation physico-chimique des huiles du *Zizyphus lotus*

1. Caractéristiques morphologiques du fruit et des amandes du *Zizyphus lotus*

Les caractéristiques morphologiques du fruit et des amandes du *Zizyphus lotus* sont résumées dans le Tableau XX. Ces résultats sont la moyenne de dix mesures.

Tableau XX. Caractéristiques morphologiques du fruit du *Zizyphus lotus*

Caractéristiques	Fruits	Pulpe	Amandes
Forme	Ovoïde	---	Circulaire
Couleur au stade de maturation	Marron	Marron	Marron
Gout	Sucré	Sucré	Non prononcé
Poids moyen (g)	0,55 ±1,4	0,27 ±1,94	0,026 ±1,26
Taille moyenne (hauteur) (cm)	1	----	0,4
Rapport amande/fruit	4,97%		
Rapport pulpe /fruit	47,67%		

Le rapport amandes/fruit est de l'ordre de 4,97%, cette valeur indique que les amandes du fruit du *Zizyphus lotus* sont réduites par rapport à celles d'autres fruits comme l'abricot qui est de 21,9% à 38%²³³. Le rapport pulpe fruit est environ 47,67%, ce paramètre permet d'évaluer, d'un point de vue alimentaire, la quantité comestible par rapport au fruit entier²³³.

2. Caractéristiques physicochimiques des amandes du *Zizyphus lotus*

2.1. Taux d'humidité

Les résultats d'analyses de la matière sèche sont donnés dans le Tableau XXI.

La teneur en eau contenue dans la pulpe est inférieure à celle rapportée dans la littérature qui est de l'ordre de 8,90%²³⁴. Ce paramètre indicateur de la qualité du matériel végétal ne dépasse pas 7,41% dans les deux parties du fruit de *Zizyphus lotus* ce qui leur permet de se conserver longtemps sans subir d'altération chimique ou biologique.

Tableau XXI. Taux de matière sèche des amandes et de la pulpe du *Zizyphus lotus*

Matière végétale	Teneur en eau %	Teneur en matière sèche (%)
Amandes	6,13	93,87
Pulpes	7,41	92,59

2.2. Cendres

Les teneurs en matière minérale totale obtenues sont résumées dans le Tableau XXII.

Tableau XXII. La teneur en matière minérale et de matière organique (MO) des deux parties du fruit de *Zizyphus lotus*

Matière végétale	Teneur en MMT (%)	Teneur en MO (%)
Pulpe	3,41	96,59
Amandes	2,84	97,16

Le taux de la MMT permet d'exprimer le taux de matière organique (MO) par rapport au poids sec et par la suite au poids frais de la partie comestible. Les résultats obtenus montrent que le taux de la matière minérale des amandes est inférieur par rapport à celui obtenu pour la pulpe.

3. Rendements des extractions des huiles obtenues à partir des amandes du *Zizyphus lotus*

L'extraction de l'huile à partir des amandes du *Zizyphus lotus* a été faite par pression mécanique et par solvant organique (hexane). Les rendements des extractions sont présentés dans le Tableau XXIII.

Tableau XXIII. Rendement de l'huile du *Zizyphus lotus* par différents modes d'extraction

Méthode d'extraction	Extracteur	Rendement %
Soxhlet au moyen de l'hexane	Hexane	26,15
Décoction au moyen de l'hexane	Hexane	24,34
Pression mécanique	Sans solvant	8,13

Le rendement de l'huile le plus élevé est celui obtenu au moyen du soxhlet tandis que celui obtenu avec pression mécanique à froid est le plus faible. Ce faible rendement de l'extraction (sans solvant organique) pourrait être affecté à l'extracteur c'est-à-dire à la pression exercée pendant le pressage.

4. Caractéristiques organoleptiques des huiles obtenues

Ces propriétés sont perceptibles par les organes de sens : la couleur, la saveur, l'odeur et aspect. Ils permettent de juger la qualité d'un produit.

4.1. La couleur

L'huile obtenue est de couleur jaune clair.

4.2. La saveur

L'huile possède un goût léger de cacahouète

4.3. L'odeur

Pas d'odeur caractéristique.

4.4. L'aspect

L'huile obtenue à partir des amandes du *Zizyphus lotus* a un aspect visqueux.

5. Détermination des paramètres physicochimiques de l'huile HBPF

La détermination de ces paramètres permet de caractériser les huiles afin de pouvoir déterminer dans quel domaine industriel nous pourrions les utiliser. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau XXIV.

Tableau XXIV. Paramètres physico-chimiques de l'huile des amandes de *Zizyphus lotus* obtenue par pression à froid

Données physico-chimiques	Huile de <i>zizyphus lotus</i> HBPF	Huile de <i>Zizyphus lotus</i> (Algérie) ²³³	Normes ²³⁵
Indice d'acide mg KOH/g huile	2,41	4 ,488	4
Indice de saponification (mg KOH/1g d'huile)	122	195,300	194-202
Indice d'ester	114,38	-----	80-180
Indice de réfraction (20°C)	1,46	1,4695	1,4586-1,4592
Indice de peroxyde (meq/kg)	6,0	0,50	15
Indice d'iode (mg d'I ₂ pour 100g d'huile)	86	130	86-107
Densité	0,88	0,89	0,899-0,902
Point de fumée (°C)	210	-----	-----

La valeur de l'indice d'ester obtenue pour cette huile est de 114,38 mg KOH/1g d'huile, elle est comprise entre 80 et 180 cela nous permet de dire que cette huile est conforme aux normes codex Alimentarius.

On constate que la valeur de l'indice d'acide obtenue pour notre huile HBPF est inférieure à la valeur enregistrée pour celui d'Algérie et celle indiquée par la norme concernant les huiles vierges ou obtenues par pression²³⁵.

D'après la valeur de l'indice d'iode obtenue 86, on pourra conclure que l'huile de *Zizyphus lotus* est non siccative par conséquent ne pourra pas former aucun film au contact de l'air, ce qui la rend une huile de base pour les massages et autres utilisations en cosmétique.

L'indice de peroxyde trouvé est de 6 meqO₂/kg est dans les normes (<15 meq O₂/kg d'huile) concernant les huiles obtenues par pression ou vièrges.

Après chauffage de l'huile du *Zizyphus lotus*, la température à partir de laquelle s'émette la fumée de façon continue est 210°C. Une huile est considérée bonne pour la cuisson si sa température n'est pas inférieure à 170 °C ²⁰⁸.

La densité de l'huile du *Zizyphus lotus* est de l'ordre de 0,88 cette valeur lui confère une bonne pénétration dans la peau comme huile de massage.

D'après ces résultats obtenus on peut conclure que l'huile obtenue par pression à froid est d'une qualité conforme aux normes en vigueur concernant les huiles conventionnelles.

L'indice d'acidité est élevé ce qui indique que la quantité d'acides gras libres est élevée, ceci montre que l'huile est très sensible à l'humidité du laboratoire et par conséquent l'extraction doit se faire sur un échantillon bien sec et bien conservé dans un endroit sec, également elle doit être conservée dans des flacons sec et stériles.

6. Composition chimique des huiles végétales des amandes du *Zizyphus lotus*

6.1. Composition en acides gras

La Figure 23 présente le chromatogramme des acides gras de l'huile de *Zizyphus lotus* obtenue par pression mécanique. Les teneurs en acides gras des deux huiles du *Zizyphus*

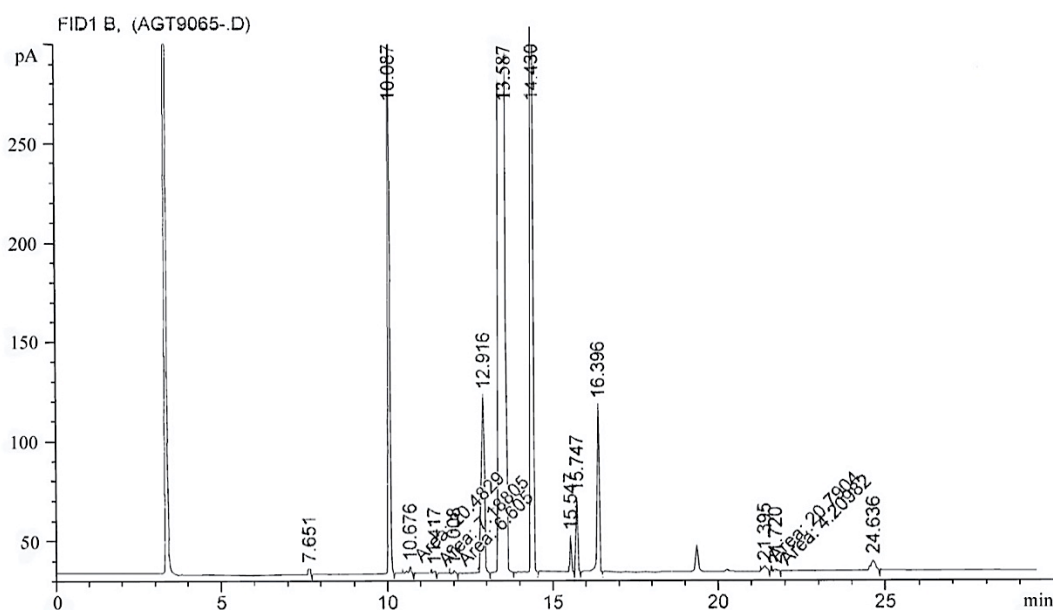


Figure 23. Chromatogramme des principaux acides gras de l'huile de *Zizyphus lotus* obtenue par pression mécanique

lotus celle obtenue par pression à froid et par solvant sont présentées dans le Tableau XXV.

Tableau XXV . Composition en acides gras des huiles des amandes de *Zizyphus lotus* (obtenue par pression mécanique et par solvant)

Huile obtenue par pression à froid			Huile obtenue par soxhlet		
Acides gras	Quantité %	Temps de rétention (min)	Quantité %	Temps de rétention (min)	
Acides gras saturés	Acide myristique C14 :0	0,1	7,6	0,09	7,64
	Acide palmitique C16 :0	9,2	10,08	9,34	9,34
	Acide margarique C17:0	0,1	11,41	0,05	11,42
	Acide stéarique C18 :0	4,9	12,91	4,95	12,93
	Acide arachidique C20 :0	1,1	15,74	1,11	15,76
	Acide béhinique C22:0	0,16	21,39	0,65	19,37
	Acide lignocérique C24:0	0,38	24,63	0,4	24,68
	Total des acides gras saturés :	15,94%		16,59%	
Acides gras insaturés	Acide palmitoléique C16 :1	0,2	10,67	0,14	10,67
	Acide Héptadécénoïque C17:1	0,1	12	0,048	12,00
	Acide oléique C18 :1	66,8	13,58	66,28	13,59
	Acide linoléique C18 :2	13,64	14,43	13,94	14,43
	Acide linolenique C18 :3	0,5	15,54	0,16	15,54
	Acide gadoléique C20 :1	2,8	16,39	2,74	16,40
	Acide érucique C22 :1	0,03	21,72	0,052	21,75
	Total des acides gras insaturés	84,07%		83,36%	

L'analyse du Tableau XXV montre que les huiles des amandes du *Zizyphus lotus* renferment des acides gras saturés de l'ordre de 15,94% à 16,59%, dont l'acide palmitique (C16 :0) est le plus abondant avec un taux de 9,2% et l'acide stéarique (C18:0) à un taux de l'ordre de 4,9%. Les acides gras monoinsaturés représentent 69,93%, dont l'acide oléique (C18 :1 ; ω -

9) est l'acide majoritaire d'un taux de l'ordre de 66,84%. D'autres acides sont présents mais en faible teneur comme l'acide gadoléique (C20 :1) avec une valeur de 2,8% et l'acide palmitoléique (C16 :1) d'environ 0,2%.

Le taux des acides gras polyinsaturés des deux huiles du *Zizyphus lotus* est environ 14,14% dont l'acide linoléique (C18 :2 ; ω -6) représente environ 13,64% et une faible quantité de l'acide linoléique (C18 :3 ; ω -3) environ 0,1% à 0,5%.

6.2. Comparaison de la composition en acides gras des huiles du *Zizyphus lotus* de différentes régions

Le Tableau XXVI présente la composition en acides gras de l'huile du *Zizyphus lotus* de différentes régions.

Tableau XXVI. Composition en acides gras majoritaires de l'huile du *Zizyphus lotus* de différentes régions

Acides gras (%)	Amandes du <i>Zizyphus lotus</i> (notre étude)		Grains du <i>Zizyphus lotus</i> (région Rhamna) ⁴⁶	Grains du <i>Zizyphus lotus</i> (Tunisie) ⁵⁰
	Pression mécanique	Soxhlet	soxhlet	soxhlet
Oléique (C18:1)	66,8	66,28	62,6	61,93
Linoléique (C18:2)	13,64	13,94	16,2	18,31
Palmitique (C16:0)	9,2	9,34	10,27	9,14
Stéarique (C18:0)	4,9	4,95	6,13	4,84
AGS	15,94	16,59	18,18	14,95
AGMI	69,93	69,26	65,57	65,29
AGPI	14,14	14,1	16,26	19,66

Les deux huiles du *Zizyphus lotus* de la région de Khouribga au Maroc renferment des valeurs en acide oléique largement supérieure à celle trouvée par El Hachimi et al.2015⁴⁶ qui est de l'ordre de 62,49% et le taux en acide oléique trouvé par Chouaibi et al.2012⁵⁰ (61,93%) reste inférieure à celui contenu dans les huiles du *Zizyphus lotus*. Les valeurs en acides gras monoinsaturés (AGMI) dans les deux huiles du *Zizyphus lotus* de notre étude sont supérieures à celles trouvés soient aux autres régions du Maroc par El Hachimi et al.2015⁴⁶ et celle trouvée

dans la région de Sidi Bouzid (Tunisie), cette dernière renferme une valeur faible en acide gras saturés inférieure par rapport aux autres huiles (14,95 %). Il est à noter également que les deux huiles du *Zizyphus lotus* de notre étude ont des taux faibles en AGPI par rapport aux deux autres huiles. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau XXVI.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la différence des résultats en acides gras trouvés dans ces huiles : le climat et le type de sol où l'arbuste pousse, la période de la collecte⁴⁶, et le mode d'extraction²³⁶.

D'après ces résultats, les deux huiles du *Zizyphus lotus* sont de type insaturé (83,36% à 84% d'acides gras insaturés) peuvent être classées dans la catégorie oléique-linoléique.

L'importance alimentaire de ces huiles repose sur leur forte composition en acides gras insaturés notamment l'acide oléique qui est connu par son impact positif sur la santé humaine. La consommation régulière de l'huile du *Zizyphus lotus* constitue donc une source privilégiée en acides gras essentiels et produisent des effets particulièrement bénéfiques au niveau cardiovasculaire en diminuant le taux de cholestérol circulant, et sa composition en acide linoléique qui est un acide gras polyinsaturé de la famille des oméga-6, constituent les acides gras essentiels, c'est-à-dire les acides gras nécessaires au fonctionnement de l'organisme mais celui-ci est incapable de les produire lui-même. A cet effet, il est nécessaire de les lui apporter par voie alimentaire. Dans les deux huiles du *Zizyphus lotus* on trouve qu'il y a une prédominance des AGMI, une étude menée par Lecerf.2011⁹⁸ a montré qu'une huile qui est riche en AGMI aura une faible fluidité durant la cuisson et par conséquent une grande stabilité par rapport à celle qui est riche en acide gras polyinsaturés. D'autres recherches ont montrés que les AGPI peuvent soulager les symptômes de certaines maladies comme les maladies coronariennes, accident vasculaire cérébral et polyarthrite rhumatoïde²³⁷. Il a été démontré également que les acides gras polyinsaturés agissent sur le processus de neurotransmission, notamment dopaminergique, sérotoninergique et cholinergique²³⁸.

L'acide oléique est l'acide majoritaire dans l'huile du *Zizyphus lotus*, son intégration dans les phospholipides membranaires, module l'activité d'enzymes, de transporteurs et de récepteurs. Il a été montré chez le rat, que la carence totale prive de nombreux organes d'une composition normale en acide oléique. Les anomalies, observées pendant la période de gestation-lactation, persistent à l'âge adulte chez les animaux qui continuent à recevoir un régime carencé²³⁹. L'acide oléique pourrait régler l'hypertriglycéridémie chez le rat diabétique. Il potentialise l'effet de la perte de poids qui diminue le risque cardiovasculaire chez les patients

obèses et diabétiques²⁴⁰. En outre, il a été montré que certains régimes riches en acide oléique entraînent une baisse du cholestérol LDL sans diminution du cholestérol HDL et par conséquent une augmentation du rapport cholestérol HDL /cholestérol LDL, contrairement lorsque l'acide oléique provient d'une source animale²⁰⁷. D'autres bienfaits sont attribués à l'acide oléique, en effet, il réduit le stress oxydant dans les cellules endothéliales et les artères pulmonaires, intervient, aussi, dans la modulation de la pression et de la viscosité sanguine et, enfin, du transport des cations dans les érythrocytes²⁰⁷.

Le pourcentage élevé en acide oléique dans les huiles du *Zizyphus lotus* les rend plus souhaitables en termes de nutrition.

Une étude menée par El Hachimi et al .2017⁷⁰ montre que l'huile des grains de *Zizyphus lotus* est non toxique et pourrait être utilisée dans les crèmes hydratantes vue sa composition en acides gras insaturés.

6.3. Composition en tocophérols

Les Figure 24 et Figure 25 présentent les chromatogrammes des tocophérols de l'huile du *Zizyphus lotus* obtenue par pression mécanique et par solvant organique.

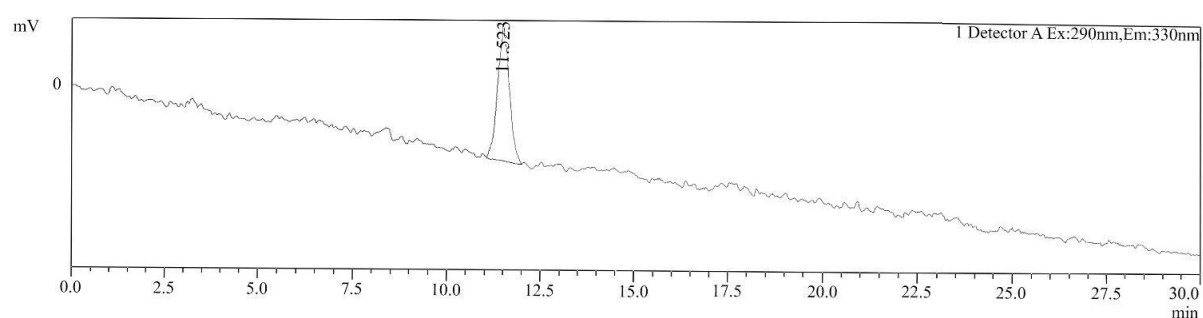


Figure 24. Chromatogramme des tocophérols de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus* obtenue par pression mécanique

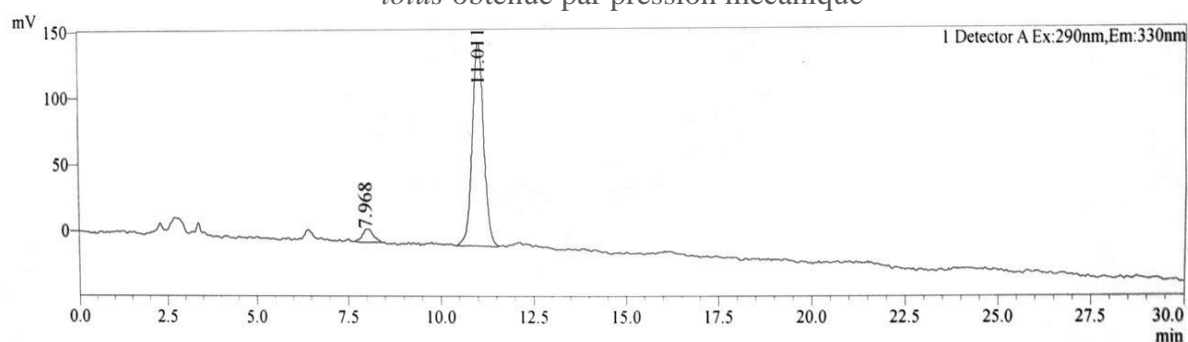


Figure 25. Chromatogramme des tocophérols de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus* obtenue par soxhlet

L'analyse du chromatogramme des tocophérols de l'huile du *Zizyphus lotus* obtenue par pression (Figure 24) montre l'existence d'un seul pic correspondant au γ - tocophérol avec une teneur totale de 32,9 mg/Kg.

Cette huile obtenue par pression mécanique contient uniquement le γ tocophérol, cette forme de la vitamine E, a une activité anti-inflammatoire et anti-cancérogène du poumon et du côlon²⁴¹.

L'analyse par HPLC des tocophérols de l'huile du *Zizyphus lotus* obtenue par soxhlet Figure 25 a révélé l'existence de deux formes de la vitamine E ; il s'agit du γ -tocophérol avec une valeur de 93,93 % représentant le composant majoritaire, suivi de α -tocophérol avec un taux de 6,07%. Le Tableau XXVII résume les résultats obtenus.

Le total tocophérol contenu dans l'huile extraite par solvant organique est trois fois supérieur à celui contenu dans l'huile obtenue par pression mécanique

Tableau XXVII. Composition en tocophérols de l'huile du *Zizyphus lotus* obtenue par soxhlet et par pression mécanique

Type d'extraction	Tocophérols				
	α %	γ %	Quantité α (mg)	Quantité γ (mg)	Total (mg/Kg)
Pression à froid	-	100	-	32,9	32,9
Soxhlet	6,07	93,93	5,9	91,39	97,3

Des recherches ont montré que l'alpha-tocophérol a une activité biologique importante²⁴², tandis que le γ -tocophérol a le pouvoir antioxydant le plus grand. Des recherches ont prouvé que γ -tocophérol a une activité anti-nitrative et anti-inflammatoire plus importante que celle de l'alpha-tocophérol²⁴³. De même, cette forme de la vitamine E pourrait agir plus efficacement en terme de prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives²⁴³. D'ailleurs, l'alpha tocophérol est absorbé plus efficacement par l'organisme que les autres formes gamma et delta tocophérols, et connu par son pouvoir antioxydant en protégeant ainsi les lipides contre la peroxydation et les espèces de nitrogène oxydés mutagènes²⁰⁷. D'autres bienfaits sont attribués à cette forme de la vitamine E comme l'inhibition de l'action des protéines kinase C (PKC) dans les cellules vasculaires lisses musculaires et par conséquent l'arrêt de leur croissance²⁴⁴. La vitamine E peut protéger contre

la carcinogénèse et la croissance des tumeurs à travers ses propriétés antioxydantes et ses fonctions immunomodulatrice²⁰⁷.

Au niveau dermique la vitamine E ou tocophérols est doté d'un pouvoir d'absorption important qui est assuré par deux voies ²⁰³ :

- La première passe à travers la couche cornée, l'épiderme et la jonction dermoépidermique.
- La deuxième passe par le canal pilo-sébacé et l'intérieur des follicules pileux.

Une carence en vitamine E dans la peau ressemble aux signes observés lors du vieillissement ²⁰³.

Les deux huiles de *Zizyphus lotus*, grâce à la quantité en tocophérol qu'elles renferment pourraient exercer une activité antioxydante significative.

6.4. Composition en stérols

Le Tableau XXVIII regroupe les teneurs en stérols pour les deux huiles des amandes du *Zizyphus lotus*.

Tableau XXVIII. Composition en stérols totaux de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus*

Sterols (%)	HSH	HBPF
Cholesterol	0,12	0,12
Campesterol	8,71	8,48
Stigmasterol	12,35	11,32
β -sitosterol	71,05	71,66
Δ 5-Avenasterol	4,09	4,24
Δ 7-Stigmastenol	0,3	0,3
Δ 7-Avenasterol	0,34	0,34
Total Sterols (mg/100g)	96,96	96,46

L'analyse des résultats présentés dans le Tableau XXVIII de la composition en stérols par CPG des deux huiles du *Zizyphus lotus*, a montré la présence du stigmastérol (11,32%), du compéstérol (8,48%) pour l'huile extraite par pression mécanique ; ces valeurs se montrent presque identiques par rapport à celles trouvées dans l'huile obtenue par soxlhet qui sont de l'ordre de 12,35 % et 8,71% successivement.

Le β -sitostérol représente le stérol majoritaire dans les deux huiles du *Zizyphus lotus*, avec une valeur de 71,66%, d'autres stérols sont détectés en faible proportion comme Δ 7-Avenasterol, Δ 7-Stigmastenol et le Cholestérol.

Ces deux huiles possèdent une teneur en stérols totaux plus de 96mg/100g d'huile. La prédominance du β -Sitostérol porte un intérêt à ces huiles car il permet de lutter contre les maladies cardiovasculaires par la réduction de l'adsorption intestinale du cholestérol²⁴⁵, également, il possède des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques, antinéoplasiques et immunomodulatrices. Plusieurs études montrent l'intérêt du β -sitostérol dans le traitement de l'hyperplasie de la prostate²⁴⁶, comme il peut avoir un effet bénéfique sur l'état de santé général d'une personne non diabétique. Il est également connu pour son rôle régulateur de molécules clés impliquées dans l'inflammation, la réponse immunitaire, les défenses anticancéreuses²⁰⁷. D'autres études ont montré que le β - sitostérol pourrait inhibait la croissance des cellules tumorales du cancer du côlon, cancer de la prostate et cancer du sein²⁴⁷.

Ces données pharmacologiques nous confirment la possibilité d'intégrer l'huile du *Zizyphus lotus* dans la formulation de produits alimentaires afin de bénéficier de ces vertus thérapeutiques sur l'état de certains cancers²⁴⁸ comme celui du prostate, du colon et du sein.

Compte tenu des résultats obtenus pour l'huile des amandes du fruit de *Zizyphus lotus*, nous pourrions conclure que ces huiles peuvent être utilisées comme huile pour le massage, comme matière première pour la formulation des crèmes hydratantes et des shampoings et comme additif alimentaire.

Chapitre 2. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits du *Zizyphus lotus*

1. Dosage des composés phénoliques totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les valeurs obtenues sont exprimées en mg EAG/g MS. Les concentrations moyennes en phénols totaux caractérisant les extraits sont présentés dans le Tableau XXIX.

Tableau XXIX. Teneur en polyphénols dans les extraits du *Zizyphus lotus*

Extrait	Polyphénols totaux (mg GAE/gMS)	Polyphénols dans la littérature (mg GAE/gMS)	Coefficient de corrélation
EEP	3,32	12,0062-3,25 ²⁵	0,981
EEA	1,39	50,67 ²⁶	

L'analyse des résultats obtenus à partir des deux parties des fruits du *Zizyphus lotus* montrent que l'extrait EEP a une teneur en phénols totaux de (3,32 mg EAG/g MS). Ce résultat est proche de celui trouvé par Rsaissi et al.2013⁶⁸ et quatre fois inférieur à celui rapporté par Ghalem .2014 ²³⁴ . Les extraits éthanoliques des amandes du jujubier sauvage renferment une valeur modérée en polyphénols de l'ordre (1,39EAG/gMS) qui reste 2,5 fois moins que celle obtenue pour l'extrait EEP.

2. Dosage des composés flavonoïdes totaux

Le tableau Tableau XXX présente le taux des flavonoïdes des extraits à l'aide de l'éthanol du *Zizyphus lotus* ; il été calculé à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en se référant à la quercétine comme standard.

Tableau XXX. Teneur en flavonoïdes dans les extraits du *Zizyphus lotus*

Extrait	Flavonoïdes (mg EQ/gMS)	Flavonoïdes dans la littérature	Coefficient de corrélation
EEP	3,62	0,031	0,9878
EEA	2,11	27,68 ²⁶	

Les résultats obtenus montrent que l'extrait à l'aide de l'éthanol de la pulpe renferme une teneur (3,62 mg EQ/g MS) plus importante que celle contenue dans l'extrait EEA (2,11mgEQ/g MS). La teneur en flavonoïdes détectée dans les amandes est largement inférieure à la valeur rapportée par Rais et al.2019⁶⁷ qui est de l'ordre de 27,68 (mg EQ/g MS).

3. Étude de l'activité antioxydante

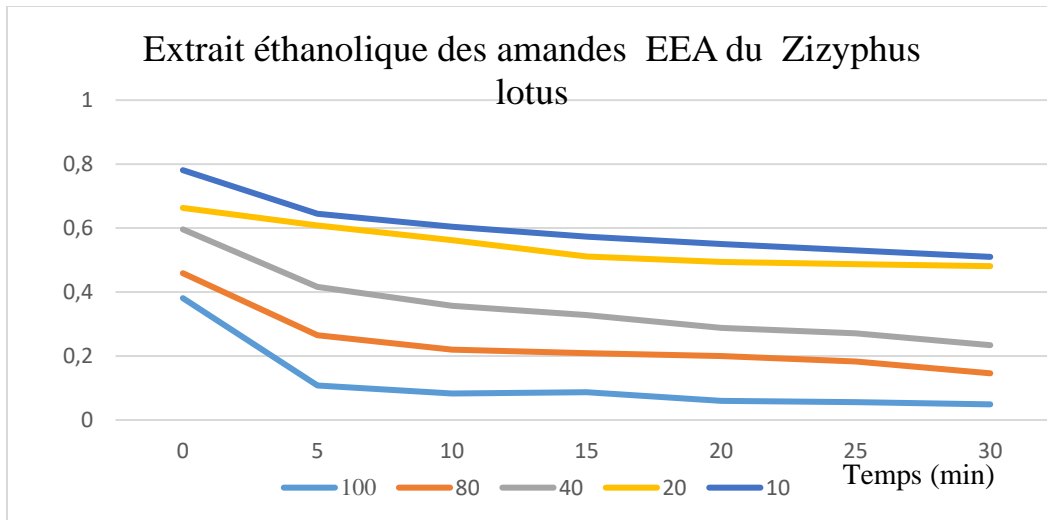
3.1. Cinétique de la réaction

La cinétique de réduction du DPPH° par les extraits du *Zizyphus lotus* et l'acide ascorbique a été suivie dans le temps jusqu'à l'obtention d'un équilibre, les résultats obtenus sont présentés par la Figure 26. On remarque que la cinétique de réaction entre le DPPH° et les extraits éthanoliques du *Zizyphus lotus* testés, ainsi que l'acide ascorbique se caractérise par deux zones :

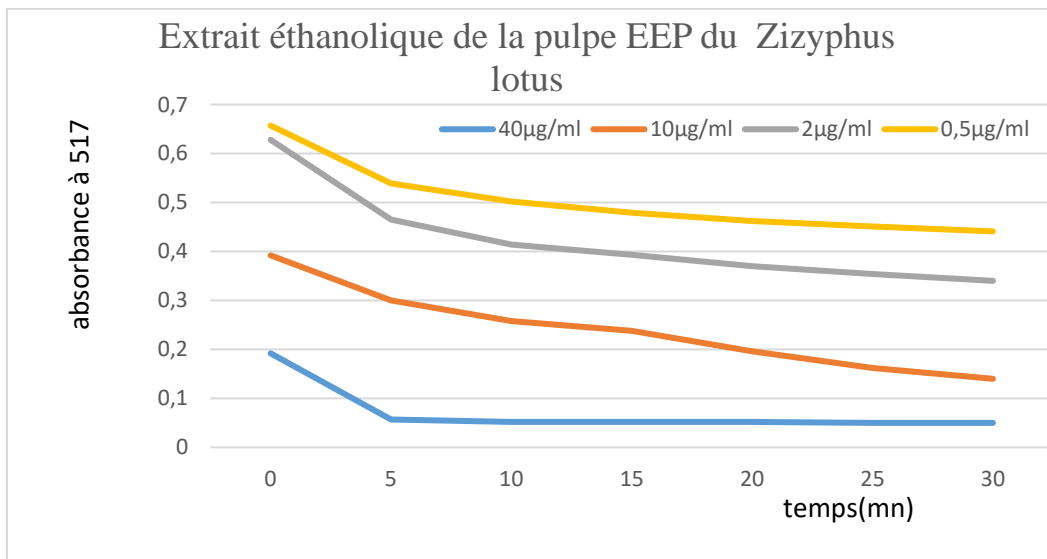
* La première zone correspond aux cinq premières minutes où une diminution rapide de l'absorbance est remarquée pour toutes les concentrations de l'acide ascorbique, de l'extrait EEP et de l'extrait EEA ce qui indique que dans cette zone le piégeage est maximal des radicaux du DPPH° par les antioxydants contenus dans les extraits du *Zizyphus lotus* et le standard (acide ascorbique). Cette réaction s'est déroulée pendant 10 min pour la concentration de 40 µg/mL pour l'extrait EEP et 15 min pour la concentration de 20 µg/mL de l'extrait EEA.

* La deuxième zone s'est produite à partir des cinq minutes pour l'acide ascorbique et l'extrait EEP pour les différentes concentrations testées. Pendant cette étape l'équilibre est atteint et la réaction est devenue lente entre les antioxydants et le DPPH°. Concernant l'extrait EEA, l'équilibre s'est produit qu'après les dix minutes de la réaction pour la concentration 40µg/mL et 15 min pour la concentration de 20µg/mL.

Le DPPH° réagit avec l'acide ascorbique dans un temps très court par rapport aux extraits EEP et EEA du *Zizyphus lotus*. Le pouvoir antioxydant dépend de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques des extraits testés. En présence d'un radical libre DPPH°, le proton H est transféré sur ce dernier pour le transformer en une molécule stable DPPH²¹¹. En conséquence la concentration du radical libre diminue ainsi que l'absorbance de l'antioxydant se réduit au cours du temps de réaction jusqu'à son épuisement.



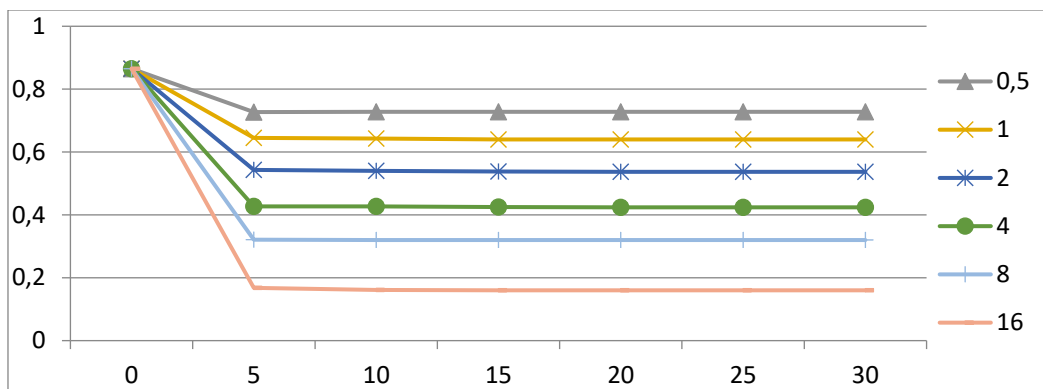
(A)¹



(B)²

¹ Extrait EEA du *Zizyphus lotus*

² Extrait EEP



(C)³

Figure 26. Cinétique de réduction du DPPH°

3.2. Pourcentage d'inhibition

À partir des valeurs obtenues de la mesure des absorbances, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la relation (I).

En effet le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit en acide ascorbique, soit aux extraits EEP et EEA du *Zizyphus lotus*. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau XXXI.

Tableau XXXI . Pourcentage d'inhibition des extraits EEP et EEA du *Zizyphus lotus*

Extraits du <i>Zizyphus lotus</i> et l'acide ascorbique	Concentration inhibitrice (µg/mL)	% d'inhibition
EEP	43,5	100
EEA	100	88
Acide ascorbique	16	96,21

À une concentration de 100µg/mL, l'extrait EEA a un pourcentage d'inhibition de radicaux libres DPPH° d'environ 88% alors que pour une concentration de 16 µg / mL de la vitamine C, le pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH° est de 96,21%.

D'après les résultats résumés dans le Tableau XXXI, on déduit que le pourcentage d'inhibition de l'extrait EEA est 7 fois moins faible que celui de l'acide ascorbique.

³ Acide ascorbique (vitamine C)

3.3. Détermination de la concentration d'inhibition IC50

La concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC50) est déterminée graphiquement (Figure 27).

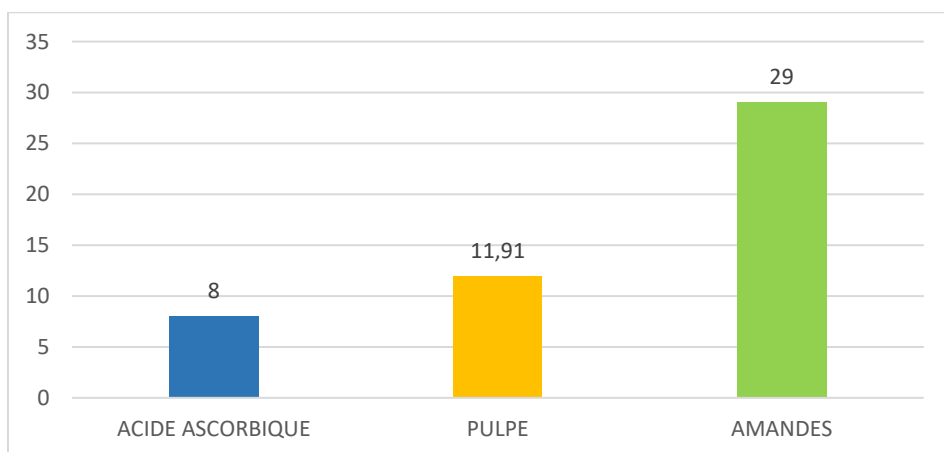


Figure 27. Valeurs de IC50 des extraits testés

En effet, l'inhibition du radical de DPPH° augmente avec l'augmentation de la concentration pour les deux parties du *Zizyphus lotus* testées ainsi que pour l'acide ascorbique.

L'analyse du résultat obtenu révèle que l'extrait EEA a une valeur IC50 2,5 inférieure à celle de EEP et 3,6 fois plus faible que celle de l'acide ascorbique.

3.4. Détermination du temps de l'équilibre TC50

Le temps d'équilibre a été déterminé comme phase où la réaction entre le DPPH° et l'antioxydant progresse lentement. Il est lié à la réactivité des antioxydants et leurs concentrations utilisées. Les résultats obtenus sont présentés par la Figure 28.

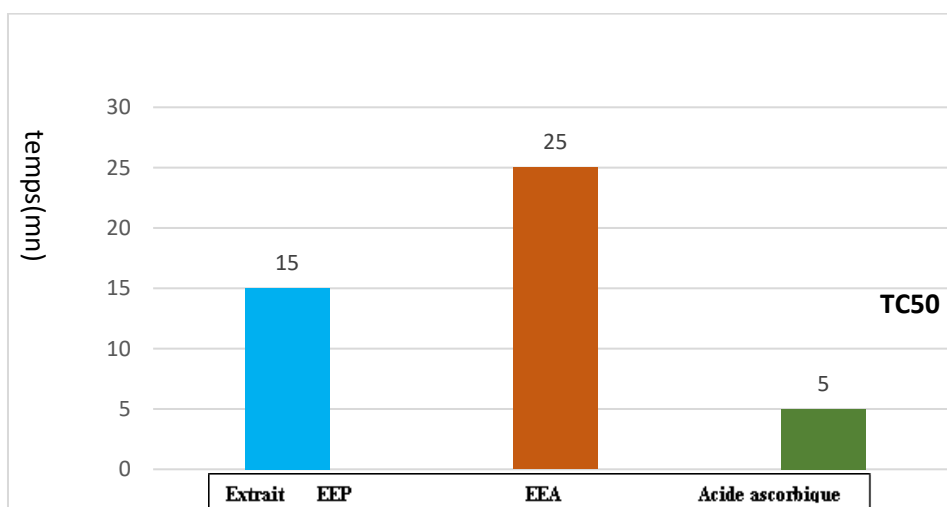


Figure 28. TC50 de l'extrait EEP, EEA de *Zizyphus lotus* et de l'acide ascorbique

L'analyse des résultats présentés par la Figure 28 montre que l'acide ascorbique réagit rapidement avec le radical libre DPPH°, au bout des cinq premières minutes, alors que les extraits testés du *Zizyphus lotus* n'atteignent l'équilibre qu'à partir de 15 min et 25 min pour l'extrait EEP et l'extrait EEA respectivement. Le Tableau XXXII présente les paramètres du calcul et le classement de l'activité antioxydante de ces extraits.

Tableau XXXII. Paramètres de calcul et classement de l'activité antioxydante de différents extraits

Extrait	IC 50 (µg/mL)	TEC50 (mn)	EA (mL/µg.mn)	% EA	Classement
Acide ascorbique	8	5	0,025	78,3	Fort
EEP	11,91	15	0,0056	17,6	Intermédiaire
EEA	29	25	0,0013	4,1	Faible

D'après ces résultats, on constate que le pourcentage d'efficacité antiradicalaire le plus faible est affecté à l'extrait EEA et il est 19 fois plus faible que celui de l'acide ascorbique et environ quatre fois plus faible que celui de l'extrait EEP. Ce résultat est en accord avec la teneur faible en phénols totaux de l'extrait EEA.

4. Test de réduction du fer (FRAP)

Les résultats du test de réduction du fer par les extraits EEP et EEA du *Zizyphus lotus* sont présentés dans la Figure 29. L'analyse de ces résultats, montre que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits^{249 250}.

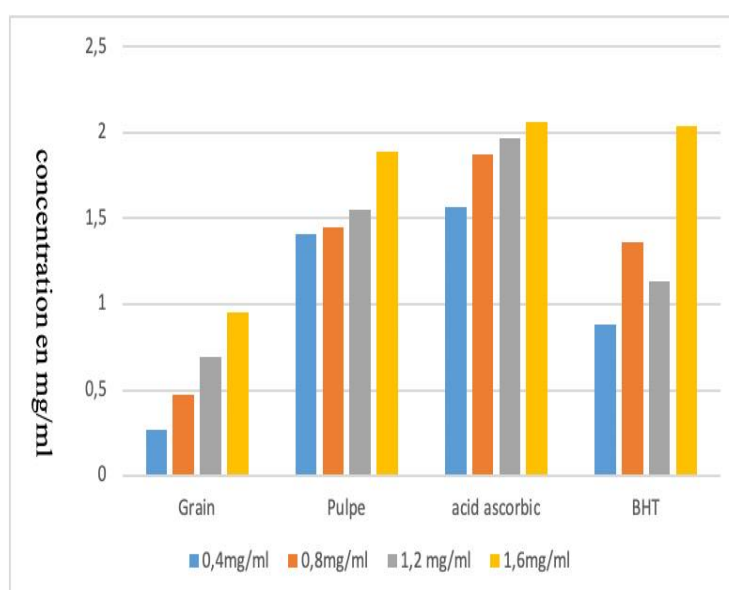


Figure 29 . Activité antioxydante des EEP, EEA et de l'acide ascorbique déterminée par la méthode FRAP

Nous remarquons une augmentation de l'absorbance qui correspond à une augmentation du pouvoir réducteur et par conséquent du pouvoir antioxydant des extraits testés. Les deux extraits EEP et EEA du *Zizyphus lotus* ont des activités antioxydantes inférieures à celle de l'acide ascorbique, alors que l'extrait EEP est doté d'une capacité réductrice du fer supérieure à celle du l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'extrait EEA possède une activité antioxydante inférieure au BHT.

La classification de nos extraits selon leur pouvoir réducteur du fer par rapport à ceux de référence est de l'ordre suivant : acide ascorbique > extrait EEP > BHT >extrait EEA.

Ce pouvoir antioxydant exprimé par les deux extraits EEP et EEA pourrait s'expliquer par la présence de composés phénoliques possédant des groupements hydroxyles capable de céder leur proton pour réagir avec les radicaux libres.

L'évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits EEP et EEA par les deux méthodes FRAP et DPPH a donné le même résultat.

D'après ces résultats, on peut conclure que les deux extraits disposent d'un pouvoir antioxydant modéré inférieur à celui des standards de référence (vitamine C), et qu'il existe une corrélation entre ces résultats et les teneurs en polyphénols (3,32 mg EAG/g MS et 1,39 mg EAG /g MS et en flavonoïdes 3,62 mg EQ/g MS et 2,11 mg EQ/g MS contenues respectivement dans les deux extrait EEP et EEA.

L'extrait EEA présente une activité anti radicalaire 4 fois plus faible que celle de l'extrait EEP et 19 fois plus faible que celle de l'antioxydant de référence (acide ascorbique).

Cette faible efficacité anti radicalaire de l'extrait EEA pourrait s'expliquer par une faible quantité des antioxydants contenus dans ce dernier en particulier la vitamine E et les caroténoïdes cela pourrait être due soit au type du solvant utilisé ou à la méthode et les conditions d'extraction ⁴⁶ .

Malgré que ces extraits du *Zizyphus lotus* montrent une efficacité anti radicalaire modérée, La consommation de la pulpe et des amandes de ce fruit pourrait être bénéfique pour éliminer les radicaux libres présents dans les aliments industriels posant des problèmes de santé pour l'homme.

Chapitre 3. Valeur nutritionnelle des fruits du *Zizyphus lotus*

1. Teneur en matière minérale

Après incinération de la pulpe et des amandes du fruit du *Zizyphus lotus*, le taux de matière minérale obtenu est présenté dans le Tableau XXXIII.

Tableau XXXIII. La teneur en matière minérale et de matière organique (MO) des deux parties du fruit de *Zizyphus lotus*

Matière végétale	Teneur en matière minérale totale (%)	Teneur en MO (%)
Pulpe	3,41	96,59
Amandes	2,84	97,16

2. Teneur en éléments minéraux

Le Tableau XXXIV présente les teneurs en sels minéraux trouvés par la méthode ICP AES dans les deux parties des fruits du *Zizyphus lotus*.

Tableau XXXIV. Composition minérale des amandes et de la pulpe du *Zizyphus lotus*

Minéraux	Teneur en mg/100g	
	Amandes	Pulpe
Ca	1,532	3,512
Mg	5,412	1,417
P	0,615	0,369
K	6,814	7,014
Fe	2,436	1,212
Cu	0,531	0,945
Zn	0,869	1,236
Mn	1,426	1,225
Se	0,014	0,063
As	< 0,01	0,0006
Cd	< 0,01	0,0002
Na	8,469	9,036
Pb	0,0001	0,0005

Les amandes du *Zizyphus lotus* sont riches en magnésium (5,412 mg/100g) quatre fois supérieure à la quantité que renferme la pulpe (1,417 mg/100g) et deux fois sont plus riches en phosphore et en fer de l'ordre de (0,615 mg/100g) et (2,436 mg/100g) respectivement. Les amandes du *Zizyphus lotus* contiennent des valeurs en potassium proches à celles contenues dans la pulpe. D'après ces résultats ; les deux parties des fruits du *Zizyphus lotus* peuvent être considérés comme une source en minéraux notamment en potassium, magnésium, fer, calcium, zinc et manganèse. Le calcium et le potassium sont connus pour leur rôle bénéfique dans le maintien de l'équilibre électrolytique du corps également il contribue à l'alcalinisation²⁵¹. Le calcium est également connu par son rôle dans l'hypotension²⁵².

Le magnésium est requis par de nombreuses enzymes, en particulier pour la kinase qui catalysent l'ATP dans les réactions de phosphorylation. Par conséquent, il fonctionne avec du calcium pour maintenir des os sains⁵⁰.

Cette composition en oligoéléments essentiels pour le maintien du corps, montre les bienfaits de la consommation des fruits entiers du *Zizyphus lotus*. Dans le but d'obtenir une poudre fine dépourvue des fragments des grains, il est indispensable de procéder à un tamisage après le séchage et broyage des fruits ce qui donne un aliment riche en sels minéraux, en polyphénols en flavonoïdes, en acides gras et en polysaccharides. Cette composition a une action anti-inflammatoire⁷⁰, antidiabétique^{63, 65}, et antitumorale, également une action émollientes et béchiques par sa richesse en mucilage et acide gras insaturés⁵⁰.

3. Détermination de la teneur en matière grasse totale

Les teneurs en matière grasse pour les deux parties des fruits du *Zizyphus lotus* sont données dans le Tableau XXXV. Les teneurs en matières grasses des deux parties des fruits du *Zizyphus lotus* varient selon la partie du fruit ; elle est de l'ordre de 3,74 % pour les pulpes. Cette valeur est largement supérieure aux données rapportées dans la littérature qui varie entre 0,79 et 0,9%^{233, 234}, cette différence est peut être expliquée par la variabilité des conditions climatiques⁴⁶. Les amandes renferment une valeur en lipides de l'ordre de 29,95% similaire à celle détectée par Abdeddaim.2016²³³ qui est de l'ordre de 29,73%.

Tableau XXXV. Teneur en matière grasse dans les fruits du *Zizyphus lotus*

Matière végétale	Pulpe	Amandes
Teneur en matière grasse %	3,74	29,95

4. Teneurs en protéines totales

Les teneurs en protéines ont été déterminées en prenant comme facteur de conversion de l'azote en protéines 6,25. La teneur en protéines des amandes des fruits est de l'ordre de 29,5%. Cette valeur est supérieure à celle déterminée par Abdeddaim.2016.²³³ qui est de l'ordre de 14,22%. Cette différence peut être expliquée par la variabilité des conditions climatiques et du génotype²⁵³.

5. Teneur en sucres

Les teneurs en sucres présentes dans les amandes du *Zizyphus lotus* sont faibles, elles varient entre 0,1 % et 0,7%. Les valeurs obtenues sont résumées dans le Tableau XXXVI .

Les amandes du *Zizyphus lotus* renferme un taux faible en sucre taux (1,2%), de ce fait l'apport en glucide nécessite une autre source riche en sucre.

La teneur en sucre détectée dans la pulpe des fruits du *Zizyphus lotus* est de l'ordre de 24,8%. Cette valeur est proche à celle rapportée dans la littérature qui est de l'ordre de 26%.

Tableau XXXVI. Sucres contenus dans les amandes du *Zizyphus lotus*

Sucres	Valeur en %
Fructose	0,1
Glucose	0,2
Saccharose	0,7
Maltose	0,2

6. Teneur en caroténoïdes

La valeur des caroténoïdes contenues dans l'huile du *Zizyphus lotus* est de l'ordre de 5,7 ppm . Dans l'huile des amandes, la présence des caroténoïdes notamment le β -carotène joue le rôle d'un inhibiteur de la photo-oxydation²⁰⁹ .

Des études ont montré que la présence des carotènes en quantité importante dans une huile permet de retarder le phénomène de la photo oxydation et de garantir les paramètres de qualité de cette huile au cours du stockage²⁵⁴.

7. Teneur en provitamine A

Le tableau Tableau XXXVII expose les valeurs de la provitamine A contenue dans les deux parties des fruits du *Zizyphus lotus* ainsi que celles indiquées dans la littérature.

Tableau XXXVII. Distribution de la provitamine A dans le fruit du *Zizyphus lotus*

Partie du fruit du <i>Zizyphus lotus</i>	Teneur en provitamine A (mg/100g MF)	Teneur en provitamine A en mg/100g MF dans la littérature	
Amandes	19,73	2,92 ²³³	-
Pulpe	12,17	1,47 ²³³	71,63 ⁴⁵

Les résultats obtenus indiquent que la teneur en provitamine A vari selon la partie du fruit du *Zizyphus lotus*. Dans notre étude, les teneurs en cette vitamine dans les amandes est supérieure à celle contenue dans la pulpe.

Les valeurs trouvées sont modérées par rapport à celles indiquées dans la littérature, néanmoins ,il reste indispensable de varier les sources en cette vitamine vu son importance dans l'adaptation de l'œil à l'obscurité, la croissance des os, à la reproduction et à la régulation du système immunitaire ainsi que la santé de la peau et les muqueuses²⁵⁵.

8. Teneur en vitamine C

La teneur en vitamine C contenue dans la pulpe et les amandes du *Zizyphus lotus* sont présentées dans le Tableau XXXVIII. La teneur renfermée dans la pulpe est trois fois supérieure à celle trouvée dans les amandes (1,05mg /100g).

Tableau XXXVIII. Teneur en vitamine C dans le fruit du *Zizyphus lotus*

Partie du fruit du <i>Zizyphus lotus</i>	Teneur en vitamine C mg/100g MF	Teneur en vitamine C (mg/100g MF) dans la littérature	
Amandes	1,05	31,14 ⁵¹	170,84 ²¹
Pulpes	3,324	5,67 ²³³	190,65 ⁴⁵

La concentration en acide ascorbique contenue dans la pulpe du *Zizyphus lotus* est inférieures aux valeurs trouvées dans la littérature (Tableau XXXVIII), cette différence pourrait être expliquer par le degré de maturité des fruits²⁵⁶. Ces teneurs en vitamine C restent notables si elles sont associées avec d'autres sources en cette vitamine, en outre cette teneur est dans l'intervalle des fruits consommables qui est de 2-200 mg/100g MF²³³.

Compte tenu des résultats présentés, il ressort que la consommation de la pulpe et des amandes du *Zizyphus lotus* procurent de l'énergie, des vitamines et des minéraux qui sont indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

Chapitre 4. Activité antibactérienne

1. Introduction

L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion dans un milieu solide sur trois souches bactériennes dont deux gram négatif (*Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*) et un gram positif (*Staphylococcus aureus*). L'activité antifongique a été évaluée contre la levure *Candida albican*.

2. Rendements des extraits

L'extraction réalisée par les solvants organiques, de polarité croissante pour les feuilles, montre que l'extrait éthanolique des amandes (EEA) a le rendement le plus élevé, suivi par les extraits éthanoliques des feuilles (EEF) et de la pulpe (EEP). L'extrait butanolique des feuilles (EBF) représente le rendement le plus faible (Figure 30).

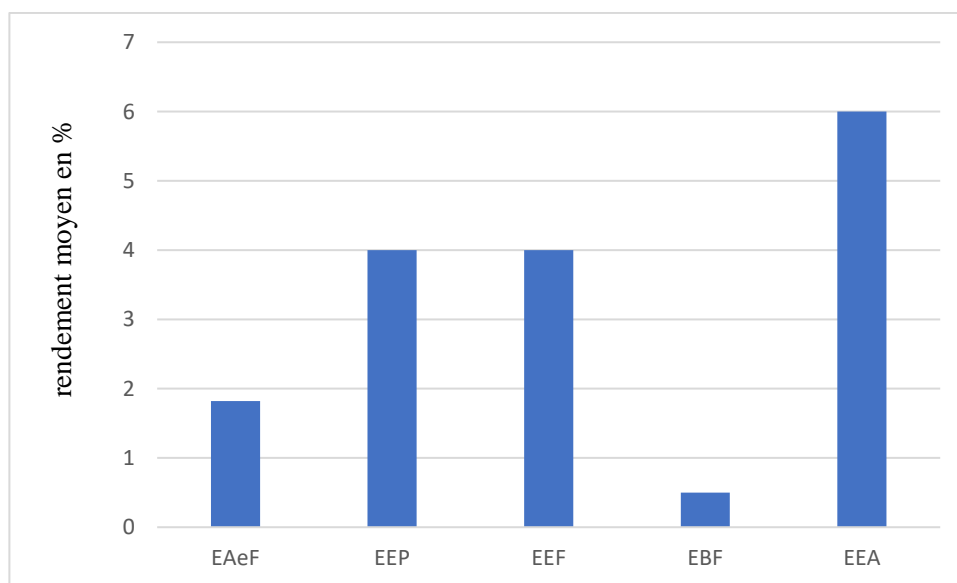


Figure 30. Rendements moyens des extraits de la pulpe, des amandes et des feuilles du *Zizyphus lotus*

Les rendements obtenus varient en fonction des paramètres de l'extraction : la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant²⁵⁷.

3. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des extraits du *Zizyphus lotus* a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque. Cette technique est basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition apparissant autour des disques imbibés des extraits végétaux.

Les tests des effets antimicrobiens sont variables selon la nature de l'extrait utilisé et les microorganismes utilisés.

Les concentrations de 12, 25, 50 et 100 mg/mL correspondent aux différentes dilutions de la concentration initiale qui est de 1g/mL de chaque extrait dans le diméthylsulfoxyde (DMSO).

L'activité antimicrobienne se traduit par l'absence de la croissance des microorganismes autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait. Elle est estimée par la mesure, à l'aide d'une règle, du diamètre de la zone d'inhibition générée par les différentes concentrations des extraits autour du disque. Chaque test est répété trois fois.

Selon les résultats obtenus pour chaque diamètre on peut déterminer la sensibilité ou la résistance des souches envers les extraits testés, le Tableau XXXIX présente les normes utilisées pour la lecture des résultats des tests d'antibiogramme sur des extraits de plante²⁵⁸.

Tableau XXXIX. Normes utilisées pour lecture d'antibiogramme sur des extraits de végétaux

Détermination du halo d'inhibition (Δ)	Degré de sensibilité du germe
$\Delta < 7$ mm	Insensible (-)
$7 \text{ mm} \leq \Delta < 8$ mm	Sensible (+)
$8 \text{ mm} \leq \Delta < 9$ mm	Assez sensible (++)
$\Delta \geq 9$ mm	Très sensible (+++)

Le Tableau XL présente les diamètres des zones d'inhibition (mm) des différentes concentrations (mg/ml) d'extraits des feuilles, des amandes et de la pulpe du *Zizyphus lotus*.

Tableau XL. Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés et sensibilité des souches

Extraits	Dilutions (mg/ml)	S. aureus		P. aeruginosa		E. coli		Candida albican		DMSO
		D	S	D	S	D	S	D	S	D
EBF	12	0	-	0	-	0	-	0	-	6
	25	0	-	0	-	0	-	0	-	6
	50	0	-	9	++	0	-	0	-	6
	100	0	-	13	+++	0	-	9	++	6
EAeF	12	0	-	8	-	0	-	0	-	6
	25	0	-	0	-	0	-	0	-	6
	50	0	-	0	-	0	-	0	-	6
	100	0	-	0	-	0	-	0	-	6
EEF	12	0	-	0	-	0	-	0	-	6
	25	0	-	0	-	0	-	0	-	6
	50	0	-	0	-	0	-	0	-	6
	100	0	-	11	+++	0	-	12	+++	6
EEP	12	0	-	8	-	0	-	0	-	6
	25	0	-	7	-	0	-	0	-	6
	50	0	-	8	-	0	-	0	-	6
	100	12	+++	13	+++	12	+++	0	-	6
EEA	12	0	-	7	-	0	-	0	-	6
	25	0	-	10	+++	0	-	0	-	6
	50	0	-	9	++	0	-	0	-	6
	100	0	-	12	+++	7	-	0	-	6

DMSO : Contrôle négatif.

D : diamètre de la zone d'inhibition.

S : Sensibilité.

- : Résistante.

+ : Sensible.

Les résultats obtenus varient selon la souche testée, le type et la concentration d'extrait utilisé. Les résultats de cette étude montrent que l'extrait EAeF ne présente aucune activité

envers toutes les souches testées (pas d'inhibition de la croissance des souches) à la concentration testée.

L'extrait éthanolique des amandes permet l'inhibition uniquement des bactéries de *Pseudomonas aeruginosa*. De plus, il a une activité faible (diamètre d'inhibition=7 mm) contre les souches de *E. coli*. Les extraits éthanoliques (EEF) et butanoliques des feuilles (EBF) permettent d'inhiber uniquement la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et la levure *Candida albicans* et il n'ont aucun effet envers la *S. aureus* et *E. coli*. L'extrait EEF permet l'inhibition de ces deux micro-organismes qu'à partir de la concentration de 100 mg/ mL.

Les bactéries *E. coli* et *S. aureus* se sont montrées résistantes envers tous les extraits sauf l'extrait éthanolique de la pulpe (EEP). Dans la plus part des cas, les bactéries à Gram(-) sont plus résistantes que les bactéries Gram(+) grâce à l'existence d'une couche, constituée de lipo-polysaccharides et de protéines, entre la membrane plasmique et l'assise externe qui forme une barrière imperméable aux composés susceptibles d'entrer et d'empêcher leur croissance²⁵⁷.

Pourtant, les antibiotiques de références utilisés ont montré des activités antibactériennes plus significatives que celles des extraits du *Zizyphus lotus* testés (Tableau XLI), avec des diamètres de zone d'inhibition importants. Cette différence s'explique par le fait que les antibiotiques de références sont des molécules isolées, pures et de concentrations connues, alors que les extraits testés renferment des mélanges non purifiés de substances actives²⁵⁸. Également, la taille des zones d'inhibition obtenue par la méthode de diffusion ne reflète pas toujours l'efficacité antibactérienne de l'extrait testé et la sensibilité de la souche bactérienne, d'autres paramètres peuvent l'influencer comme la solubilité et l'évaporation de l'extrait ainsi que la diffusion de ce dernier dans la gélose²⁵⁹.

Tableau XLI. Diamètres des zones d'inhibition (mm) et sensibilité des souches microbiennes envers des antibiotiques de référence commercial

Antibiotique utilisé	E. coli		S. aureus		P. aeruginosa	
	D	S	D	S	D	S
Gentamicyne 500	17,96±0,65	+++	29,96±1,56	+++	15,06±0,7	+++
Ampicyline 10	10	+	16,9±1,15	+++	ND	-

Cette étude révèle que les extraits testés des amandes, des feuilles et de la pulpe présentent des activités différentes sur les microorganismes cibles. D'autres types d'extraits

pourraient être testés afin de déterminer d'éventuelles inhibitions de la croissance des microorganismes pathogènes.

Les CMI enregistrées par les cinq extraits varient entre 50 et 100 mg/mL. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau XLII. Ces concentrations ont permis de classer les inhibitions induites par les extraits du *Zizyphus lotus*, selon la classification de Fertout-Mouri et al.²⁵⁷ comme faible (concentration >500µg/mL).

Tableau XLII. Concentrations minimales inhibitrices des extraits du *Zizyphus lotus*

		CMI : Concentration minimale inhibitrice (mg/mL).				
		EEP	EAE	EAeF	EEF	EBF
Microorganismes	S. aureus	50	100	-	-	-
	P.aeruginosa	50	-	-	-	50
	E.coli	100	-	-	-	-
	Candida albican	-	-	-	100	-

Des recherches ont prouvé que les activités antimicrobiennes des extraits des plantes résultent de la nature des composés phénoliques ainsi les divers organes de la plante utilisée (feuilles, graines, fleurs ou écorces)²⁵⁹. De ce fait la variation dans l'activité antimicrobienne des extraits du *Zizyphus lotus* testés peut être due à la différence dans leur teneur en polyphénols et flavonoïdes. La pulpe renferme une teneur en polyphénols de l'ordre de 3,32 mg d'acide gallique (EAG)/g MS. Quant aux amandes, cette valeur est environ 1,39 mg d'acide gallique (EAG)/g MS.

L'identification par CLHP-SM des principaux polyphénols présents dans l'extrait éthanolique de la pulpe a montré l'existence de la catéchine, la quercétine principalement et l'acide caféique.

Pour les extraits des feuilles du *Zizyphus lotus*, l'identification par CLHP et le spectre de l'UV-Vis, et en se basant sur les données rapportées dans la littérature ;les principaux composants détectés dans les extraits polaires (éthanolique et butanolique) sont : flavanol glycosides, quercétine-3-O-rutinoside, myricétine-3-O-rutinoside, kaempferol-3-O-(2,6-di-O-rhamnosyl-glucoside) et kaempferol-3-O-(6-O-rhamnosyl-glucoside)²⁶⁰. L'analyse a montré également l'existence de la rutine et la quercétine-3-β-D-glucoside⁶¹. Cette composition est similaire à celle déterminée dans les feuilles du *Zizyphus Spina Christi*²⁶⁰.

Les extraits éthanolique et butanolique des feuilles du *Zizyphus lotus* ont des propriétés antimicrobiennes modérées. Ces résultats peuvent trouver des applications dans les domaines en relation avec le traitement de certaines infections microbiennes et fongiques. Dans ces conditions, des études supplémentaires sur la composition chimique de chaque extrait ainsi que l'étude *in vitro* et *in vivo* de cette activité antimicrobienne en milieu liquide sont nécessaires.

Chapitre 5. Formulation

1. Formulation de crème hydratante à partir des amandes du *Zizyphus lotus*

1.1. Composition de la crème cosmétique

Dans la préparation des crèmes réalisées, l'huile de *Zizyphus lotus* a constitué la substance active (Figure 31).



Figure 31. Cliché de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus*

La crème est formée de deux composants constituant la phase grasse, il s'agit du beurre de karité qui a procuré à la crème une bonne consistance et l'huile des amandes du *Zizyphus lotus* obtenue par pression à froid qui représente l'élément actif.

Le Tableau XLIII présente les constituants de la crème obtenue à partir de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus*.

Tableau XLIII. Composition de la crème à base de l'huile du *Zizyphus lotus*

Rôle	Composant
Principe actif	Huile pressée à froid du <i>Zizyphus lotus</i>
Émulsifiant et épaississant	Cire d'abeille
Conservateur	Extrait de pépin de pamplemousse
Parfum	Huile essentielle de lavande
Phase aqueuse	L'eau florale de lavande
Épaississant	Beurre de karité
Additif (antioxydant)	Vitamine E

L'émulsifiant utilisé dans cette préparation est la cire d'abeille, lorsqu'elle est chauffée sa texture devient proche de celle de l'huile de *Zizyphus lotus* et par conséquent permet d'avoir un mélange homogène.

Le beurre de karité utilisé dans cette formulation a permis d'améliorer la texture finale du produit (crème) en la rendant onctueuse à la surface de la peau.

1.2. Analyse de la qualité de la crème cosmétique

1.2.1. Caractéristiques organoleptiques de la crème

La couleur de la crème se situe entre le blanc et la couleur crème, cette caractéristique est déterminée en se référant au code couleur RVB qui se présente sous la forme de trois couples de codes en chiffres compris entre 0 et 255.

Le code couleur correspondant à la crème obtenue à partir de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus* est comme suit : (230, 251, 151) - (246, 244, 148) - (233,241,161).

1.2.2. Etude de stabilité

Le suivi des paramètres de stabilité consistait à suivre la variation dans le temps, des paramètres suivants :

- Caractéristiques organoleptiques (consistance, couleur, odeur, et aspect) de la crème réalisée.
- Séparation de phases.
- L'apparition ou non des phénomènes de crémage et de sédimentation. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau XLIV.

Tableau XLIV. suivi de quelques paramètres de stabilité de la crème formulée

Paramètres de stabilité	Durée de conservation					
	Jour 1	Semaine 1	Semaine 2	Mois 1	2 ^{ème} mois	6 ^{ème} mois
Consistance	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable
Couleur	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable
Odeur	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable
Séparation de phase	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable	Invariable

Le suivi de ces paramètres a révélé que l'émulsion préparée reste homogène et les paramètres visuels sont stables, cependant le contrôle de la stabilité microbiologique et de la viscosité sont nécessaires.

À noter également que lors de la conservation il y a apparition d'un aspect légèrement granuleux de la crème, cela est lié aux variations de la température. Également une étude a révélé que la nature des matériaux utilisés pour le conditionnement (pots en plastique, flacons en verre transparent ou brun) peut influencer les aspects macroscopiques et visuels des crèmes²³¹.

1.2.3. Test d'irritation cutanée

L'indice d'irritation cutanée obtenue ; après application de la crème sur des animaux ; est de l'ordre de 0,16. D'après ce résultat on peut conclure que la crème fabriquée à partir de l'huile des amandes du *Zizyphus lotus* est non irritante.

2. Formulation des produits alimentaires à base de la poudre du fruit du *Zizyphus lotus*

2.1. Introduction

Beaucoup des travaux de recherches ont montré les bienfaits des fruits de *Zizyphus lotus*⁴⁵, en particulier l'effet anti-inflammatoire⁴⁷, antiulcéreux⁸², émollient, antidiabétique, antiviral, antibactérien²⁰, et antifongique. Il soulage les troubles urinaires⁵⁷ et prévient du cancer de la prostate²⁶¹ et exerce un effet gastro-protecteur²⁰.

Ce fruit est riche en éléments nutritifs⁵⁰ en vitamines (A, C, E) en sels minéraux, en flavonoïdes, en polyphénols, en acides aminés, en sucres et en acides gras essentiels²⁶²,...

En se basant sur les résultats scientifiques de ces travaux et sur l'utilisation de ce fruit dans la médecine traditionnelle marocaine, nous avons mis au point quelques préparations pour contribuer à la valorisation des fruits de cette plante spontanée du Maroc le *Zizyphus lotus*.

2.2. Caractéristiques générales des fruits utilisés

Le fruit est de couleur marron (Figure 32), de gout sucré, de forme sphérique et d'odeur parfumée.

- **Nomenclature locale du fruit** : « Zizouf » ou « N'bag »
- **Période de maturité** : Aout-Septembre
- **Période de récolte** : Septembre-Octobre.

- **Digestibilité** : pulpe du fruit très digeste.



Figure 32. Fruit du *Zizyphus lotus* utilisé dans la formulation

2.3. Formulation 1 : Préparation d'un produit alimentaire sans gluten.

2.3.1. Introduction

Le peuple marocain célèbre la naissance de nouveau-nés en présentant aux invités une portion de Sfouf, ou Zammetta contenant plusieurs ingrédients. Néanmoins, l'intégration de la des fruits de *Zizyphus lotus* reste méconnue. De ce fait, nous l'avons intégrée dans la composition de ces aliments pour substituer la poudre du saccharose couramment utilisée dans ces produits qui peut aller jusqu'à plus de 20% de la composition totale. Nous avons intégré la poudre des fruits entiers du *Zizyphus lotus* dans la composition de ces deux aliments Sfouf, ou Zammetta. Pour obtenir le produit alimentaire à base de cette poudre deux étapes sont nécessaires :

La première étape consiste à faire un examen organoleptique et une caractérisation physico-chimique de la poudre obtenue à partir des fruits du *Zizyphus lotus*.

La deuxième partie est consacrée à la formulation d'un produit alimentaire « Sfouf » à partir de la poudre obtenue.

2.3.2. Préparation de la poudre du *Zizyphus lotus*

Après examen organoleptique des fruits qui consiste à trier des fruits valides, propre, sec et ne renfermant aucun fruit détérioré, piqué ou cassé, ils sont séchés à l'étuve à une température de 50°C durant 12 h.

Les fruits sont ensuite broyés à l'aide d'un broyeur (*Figure 33*), jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui est ensuite tamisée, afin d'éliminer les fragments de l'enveloppe des grains, par un tamis de 750 μm de diamètre de mailles.



Figure 33 . Broyeur électrique utilisé pour l'obtention de la poudre du fruit du *Zizyphus lotus*

La Figure 34 illustre les étapes de préparation de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus*.

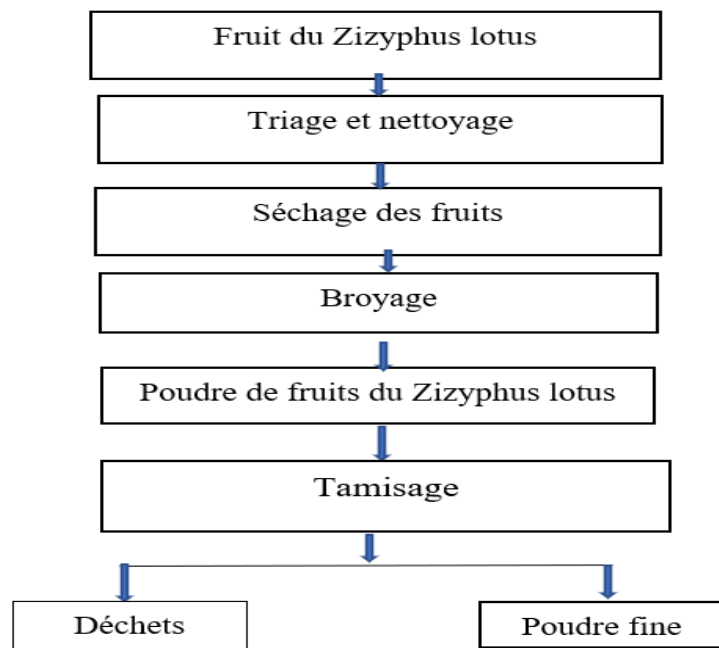


Figure 34. Préparation de la poudre du fruit du *Zizyphus lotus*

2.3.2.1. Examen organoleptique :

La poudre obtenue des fruits du *Zizyphus lotus* est de

- Couleur brune Claire,

- Gout doux et sucré,
- Aspect : particules fines et lisses,
- Odeur parfumée.

2.3.3. Propriétés physico-chimiques de la poudre du *Zizyphus lotus*

L'utilisation de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus* comme ingrédient dans la formulation des produits alimentaires nécessite, au préalable, une étude physicochimique détaillée et une analyse organoleptique. La connaissance de ces caractéristiques est nécessaire pour la suite des essais de fabrication de différentes préparations alimentaires enrichis en poudre des fruits du *Zizyphus lotus*. Le Tableau XLV présente la composition de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus* utilisé dans les différentes préparations.

Tableau XLV: Composition de la poudre du fruit du *Zizyphus lotus*

Composition et caractéristiques		Poudre du fruit du <i>Zizyphus lotus</i>	Apport nutritionnel conseillé
Humidité (%)		7,41	-
matière minérale		3,41	-
Protéines% ²⁶³		6.37 ± 0.33	-
minéraux ⁹⁴ (mg/100g)	K	607,40 ± 1,03	-
	Mg	288,6 ± 0,26	-
	Ca	650,6 ± 4,45	-
	Cu	0,03	-
	Zn	1,93 ± 0,52	10- 12 mg
	Fe	2,50 ± 0,01	-
Polyphénols ²⁶³ (EAG)/100 g		412,58 ± 11,12	-
Flavonoides ²⁶³ (EC/100g)		172,07 ± 24,84	-
Glucides ²⁶³ g/100 g		76,48 ± 0,03	-
Tanins ⁴⁵ (mg/100g)		33	-
Matière grasse ²⁶³ (g/100 g poudre)		6,16 ± 0,22	-
Fibres solubles ²⁶³ (g/100g)		1,70 ± 0,032	-
Vitamines ^{45, 21} (mg/100g)	A	71,63	500- 600 µg
	C	5,67	110 mg
	B1	0,039	-
	E	11,23	12 mg
Acides gras ⁴⁸ (%)	acide oleique	88,122	-
	acide elaidique	7,882	-
caroténoïdes ⁴⁵ (mg/100g)		1,47	-

Glucides ²⁶³ (g/100g)	saccharose (mg/100g)	194	-
	fructose (mg/100g)	13,89	-
	Glucose (mg/100g)	7,17	-

La pulpe des fruits du *Zizyphus lotus* contient les acides aminés suivants : asparagine, arginine, acide glutamique, acide aspartique, glycine, sérine et thréonine²³³. Le fruit du *Zizyphus lotus* renferme une teneur importante en polyphénols totaux. En effet 20 composés ont été répertoriés notamment l'acide chlorogénique (105,60 mg/Kg), l'acide vinylique (254 mg/Kg), l'acide caféique et la rutine⁶³.

2.3.4. Formulation 1

La formule obtenue est constituée de trois poudres qui sont mélangées pour obtenir un mélange homogène. Cette préparation de base est riche en antioxydants (polyphénols et flavonoïdes), en vitamines (A, B, C, E), en sels minéraux (Ca, K, P, Mg, Mn, Zn, Fe) en protéines, en tanins, en saponines, en fibres, en mucilages, et en sucres....

2.3.4.1. Composition

Le Tableau XLVI présente les ingrédients utilisés ainsi que leurs proportions dans la formulation d'un produit alimentaire sans gluten à base de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus*.

Tableau XLVI. Ingrédients de la formulation d'un produit alimentaire à base de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus*

Ingrédients	Rôles	Proportion %
Poudre fine totale des fruits du <i>Zizyphus lotus</i> « Nbag	Bienfaits thérapeutiques ²⁶³	51
Farine du millet dorée دقيق حبوب إلان محمر	Charge, nutritionnelle ²⁶⁴	48
Poudre de la menthe poivrée sèche (elabdi) (النعناع العبددي)	Parfums aromatisant ²⁶⁵	1

2.4. Formule 2 : Préparation de Zammetta (sous forme de pâte) sans gluten :

2.4.1. Composition :

La poudre des fruits du *Zizyphus lotus* est utilisée comme poudre de base pour la formulation du produit « Zammetta » sous forme de pâte. Les constituants utilisés dans cette préparation sont présentés dans le Tableau XLVII.

Tableau XLVII. Ingrédients de la formulation de "Zammeta" à base de la poudre des fruits du *Zizyphus lotus*

Ingrédients	Rôles	Proportion (g/100g)
Poudre fine totale des fruits du <i>Zizyphus lotus</i> « Nbag »	Bienfaits thérapeutiques ²⁶³	50
Farine du millet torréfiée دقيق حبوب إلان محمر	Charge, nutritive ²⁶⁴	25
Farine entière de gousse de caroube	Epaississant nutritive ²⁶⁶	10
Huile d'olive extra vierge ²⁶⁷	liant ²⁶⁸	15

2.5. Formule 3 : préparation d'une galette

La poudre du *Zizyphus lotus* renferme des inhibiteurs de l' α -amylase et de la glycanase ce qui rend la fermentation des farines trop lente. L'ajout de la poudre des fruits de *Zizyphus lotus* à une farine de blé pour préparer des galettes va leurs donner une texture ferme et un gout agréable.

2.5.1. Composition :

Dans cette préparation, la poudre du *Zizyphus lotus* est utilisée pour ses bienfaits thérapeutiques et comme substituant de polysaccharides. Les ingrédients mis en œuvre dans cette formule sont présentés dans le Tableau XLVIII:

Tableau XLVIII. Principaux composants d'une galette à base de la poudre du *Zizyphus lotus*

Ingrédients	Rôles	Proportion (g/100g)
Poudre fine totale des fruits du <i>Zizyphus lotus</i> « Nbag »	Bienfaits thérapeutiques ²⁶³	44
Farine du blé tendre torréfiée دقيق حبوب القمح الرطب محمر	Charge, nutritive	50
Poudre de curcuma	Colorant et antioxydant ²⁶⁹	1
Huile d'olive vierge extra ou beurre ^{267, 268}		4
Eau	Liant	5

2.6. Formule 4 : préparation des crêpes (بغريير فرنسي) :

2.6.1. Composition :

Dans la formulation de la pâte des crêpes, la poudre du *Zizyphus lotus* est exploitée pour ses bienfaits thérapeutique et comme substituant des polysaccharides. Les constituants utilisés dans cette préparation sont présentés dans le Tableau XLIX.

Tableau XLIX. Ingrédients de la pâte des crêpes à base de la poudre du *Zizyphus lotus*

Ingrédients	Rôles	Proportion (g/100g)
Poudre fine totale des fruits du <i>Zizyphus lotus</i> « Nbag	Bienfaits thérapeutiques ²⁶³	15
Farine du blé tendre torréfiée دقيق حبوب القمح الرطب محمر	Charge, nutritive	40
Lait entier	Liant nutritif	20
2 œufs		15
Eau	Liant	10

2.6.2. Procédé :

- Dans un mixeur on introduit le mélange des deux farines puis on ajoute successivement le lait, les œufs, et l'eau. L'ensemble est mélangé durant 3 minutes jusqu'à l'obtention d'un mélange visqueux. On laisse reposer le mélange quelques minutes et on procède à la cuisson.

- On pourra ajuster la texture du mélange obtenu par l'ajout du lait.

- La cuisson : une poêle est chauffée à 200°C, et une quantité de la pâte est introduite pour la cuire.

3. Conclusion

La poudre des fruits de *Zizyphus lotus* que nous avons utilisée dans ces formulations pourrait être un bon complément alimentaire avec un contenu riche en composés bioactifs, tels que les vitamines, les minéraux, et les composés antioxydants naturels (polyphénols, flavonoïdes). Les nouvelles formulations de produits alimentaires en utilisant la poudre de cette plante que nous avons développés, peuvent avoir plus de bienfaits potentiels pour la santé des consommateurs grâce aux composants fonctionnels qu'ils renferment.

Conclusion générale et perspectives

L'usage des plantes médicinales représente une source inépuisable en matières premières à des fins thérapeutiques, cosmétiques, ou nutritionnelles. Grâce à la diversité des molécules actives qu'elles renferment (polyphénols, sels minéraux, caroténoïdes et sucres), ces plantes occupent toujours une importance dans la phytothérapie suite aux effets de certains produits synthétiques.

Afin de contribuer à la préparation de produits naturels sains pour le bien-être de l'Homme, nous avons choisi comme matériel végétal les fruits du *Zizyphus lotus*. A partir des amandes de ces fruits, nous avons extrait une huile végétale non conventionnelle en utilisant trois procédés d'extraction : par macération, par soxhlet au moyen de l'hexane et par pression mécanique. Les rendements d'extraction des huiles des amandes obtenues par l'hexane sont de l'ordre de 25% et par pression à froid 8,14%.

La détermination des paramètres physicochimiques de l'huile extraite par pression à froid, en particulier l'acidité, l'indice de peroxydes, l'indice d'iode et l'indice de saponification, nous permet de conclure que ces paramètres sont dans les normes, et que les huiles obtenues sont semi-siccative. Les caractères organoleptiques montrent que ces huiles sont de bonne qualité.

La composition chimique en acides gras de ces deux huiles révèle la présence des fortes teneurs en acides gras insaturés, en particulier, l'acide oléique $\omega 9$ et l'acide linoléique $\omega 6$ avec une proportion totale de 85%. Cette huile peut être classée parmi les huiles de type oléique puisque l'acide oléique représente tout seule plus de 66% des acides gras.

L'analyse par CLHP de ces huiles montre qu'elles contiennent une quantité suffisante en tocophérols (32,9 à 97,3 mg/Kg) en particulier le γ -tocophérol qui est l'une des huit formes naturelles de la vitamine E, avec la présence de l' α -tocophérol pour l'huile obtenue par solvant organique. Ces tocophérols jouent un rôle important durant la conservation à long terme et pour l'application, puisque la vitamine E est un antioxydant bénéfique pour la réparation de la peau contre les agressions des produits chimiques.

La composition en phytostérols des deux huiles du *Zizyphus lotus* enregistre la présence du β -sitostérol en plus grande proportion (71,66%), on note également la présence du stigmastérol avec des teneurs moyennes de l'ordre de (11,32% à 12,35%).

L'ensemble des données chimiques et physiques que nous avons montrées au cours de cette étude, nous permet de conclure que l'huile non conventionnelle extraite à partir des amandes des graines de *Zizyphus lotus* pourrait être utilisée comme additif alimentaire vu sa composition chimique en acides gras, et dans le domaine cosmétique comme matière principale pour la formulation des crèmes hydratantes, comme huile de massage ou comme huile alimentaire vu sa teneur en vitamine E.

Par ailleurs en se basant sur la forte teneur en huile dans les amandes des *Zizyphus lotus*, nous avons mis en point la formulation d'une crème cosmétique en utilisant l'huile obtenue par pression à froid comme matière grasse. Le test d'irritation cutanée primaire de cette crème a montré qu'elle est non irritante, et le suivi de certains paramètres de stabilité (consistance, l'apparition ou non de séparation de phases) a indiqué qu'elle reste invariable.

L'analyse des teneurs en eau qui ne dépasse pas 7,41% dans les deux parties des fruits de *Zizyphus lotus* ce qui leur permet de se conserver longtemps sans subir d'altération chimique.

La composition chimique des deux parties des fruits a révélé qu'ils pourraient apporter de nombreux éléments minéraux (calcium, magnésium, manganèse, fer et zinc) et vitamines (tocophérol, carotène, vitamine C, et provitamine A) qui sont indispensables à la nutrition humaine. L'étude de la composition des amandes de ces fruits a présenté une quantité appréciable en protéines (29,95%).

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH a indiqué, que les extraits éthanoliques ont montré une efficacité antioxydante ($IC_{50} = 29,01 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$) et ($IC_{50} = 11,91 \pm 0,51$ pour les extraits des amandes et de la pulpe respectivement. Ces valeurs restent inférieures à celle enregistrée pour l'acide ascorbique ($IC_{50} = 8,03 \pm 0,12$).

L'analyse des phénols totaux des extraits éthanoliques des amandes et de la pulpe montre des teneurs allant de 1,39 à 3,32 mg EAG /g MS pour les polyphénols et la quantité en flavonoïdes varie entre 2,11 à 3,62 (mg EQ/g MS). Il apparaît que les teneurs en polyphénols et flavonoïdes contenues dans la pulpe sont nettement supérieures à celles renfermées dans les amandes.

L'étude de l'activité antimicrobienne a montré que les extraits testés des amandes, des feuilles et de la pulpe présentent des activités différentes sur les microorganismes cibles. D'ailleurs toutes les souches microbiennes testées (bactéries et la levure) sont inhibées au moins

par l'un des extraits, à l'exception de l'extrait des feuilles au moyen de l'acétate d'éthyle. Les CMI enregistrées par les extraits des *Zizyphus lotus* varient entre 50 et 100 mg/mL.

Sur la base des résultats obtenus et dans le but de mieux valoriser ce travail, il est nécessaire de réaliser les travaux suivants :

- Étude de l'activité anti-inflammatoire, antifongique de l'huile.
- Valoriser la poudre totale du fruit de *Zizyphus lotus*, vue son utilisation dans la médecine traditionnelle et vue sa composition chimique riche en composés bioactifs et en oligoéléments en particulier le magnésium, le potassium et le fer.
- Valoriser aussi le déchet dans le domaine de l'environnement.
- Améliorer le rendement d'extraction de l'huile par d'autres méthodes écologiques.

Approfondir la conception des crèmes et du shampoing à base de l'huile bio de *Zizyphus lotus* en intégrant d'autre ingrédients biologiques.

Bibliographie

1. Srour, B. F., L. ; Kesse-Guyot, E.; Allès , B.; Méjean , C.; Andrianasolo , R.; Chazelas, E.; Deschasaux , M.; Hercberg , S.; Galan, P. ; Monteiro , C.; Julia, C.; Touvier , M., Ultra-processed food intake and risk of cardiovascular disease: prospective cohort study (NutriNet-Santé). *BMJ* **2019**, *365*, 1451.
2. Bellakhdar, J., *La pharmacopée traditionnelle Marocaine.Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. 1998.
3. Trichopoulou , A.; Lagiou , P., Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history, and lifestyle. *Nutr Rev* **1997**, *55*, 383-389.
4. Penny, M. K.-E., Monounsaturated Fatty Acids and Risk of Cardiovascular Disease. *Aha science advisory* **1999**, *100*, 1253-1258.
5. Gardner , C.; Kraemer , H., Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **1995**, *15*, 1917-27.
6. Delplanque, B., Intérêt nutritionnel des huiles de tournesols: Tournesol linoléique et tournesol à haute teneur en oléique. *OCL - Oilseeds and Fats, Crops and Lipids* **2000**, *7*, 467-472.
7. Lecerf, J.-M., Produits de la pêche et acides gras oméga 3. Intérêt en prevention cardio-vasculaire. *Phytothérapie* **2007**, *5* (1), 14-21.
8. Simopoulos, A. P., The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2002**, *56*, 365-379.
9. Hansel, B.; Courie, R.; Bayet, Y.; Delestre, F.; Bruckert, E., Phytostérols et athérosclérose. *La revue de médecine interne* **2011**, *32*, 124-129.
10. Dreikorn , K., The role of phytotherapy in treating lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. *World Journal of Urology* **2002**, *19*, 426-435.
11. Saremi , A.; Arora , R., Vitamin E and cardiovascular disease. *Am J Ther.* **2010**, *17*, 56-65.
12. Bin Sayeed, M. S.; Ameen, S. S., Beta-Sitosterol: A Promising but Orphan Nutraceutical to Fight Against Cancer. *Nutrition and Cancer* **2015**, *67*, 1216-1222.
13. Palma, G.; Padilla, M., Un produit emblématique à la dérive des continents et des consommateurs : l'huile d'olive. *OCL* **2012**, *19*, 283 - 289.
14. Kapseu, C., Production, analyse et applications des huiles végétales en Afrique. *OCL* **2009**, *16*, 215-229.
15. Furnham, A.; Vincent, C. *Reasons for using CAM. In: Kelner M and Wellman B (Eds), Complementary and Alternative Medicine., Challenge and Change*; Harwood. Amsterdam., 2000; pp 61-78.
16. Abu-Zarga, M.; Sabri, S.; Al-Aboudi, A.; M. Saleh Ajaz , M.; Sultana, N.; Ur-rhman, A., New cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Prducts* **1995**, *58*, 504-511.

17. Abdel-Zaher, A. O.; Salim , S. Y.; Assaf , M. H.; Abdel-Hady , R. H., Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphusspina-christi* leaves. *J. Ethnopharmacol* **2005**, *101*, 129-138.
18. Suksamrarn , S.; Suwannapoch , N.; Aunchai , N.; Kuno, M.; Ratananukul , P.; Haritakum , R.; Jansakul , C.; Ruchirawat , S., Ziziphine N, O, P, newantiplasmodial cyclopeptides alkaloids from *Zizyphus oenoplia* var. *brunoniana*. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1175-1180.
19. Evreinoff, V. A., Notes sur le Jujubier (*Zizyphus sativa* G.). *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée* **1964**, *11*, 177-187.
20. Bakhtaoui, F.-Z.; Lakmichi, H.; Megraud, F.; Chait, A.; Gadhi, C.-E. A., Gastro-protective, anti-*Helicobacter pylori* and, antioxidant properties of Moroccan *Zizyphus lotus* L. *Journal of applied pharmaceutical science* **2014**, *4* (10), 81-87.
21. Benammar, C. E. H. Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante médicinale nord africaine, *zizyphus lotus* l. (sedra) :étude des différents extraits. Thèse de doctorat, Université abou bekr belkaid – Tlemcen Faculté des Sciences de la Nature de la Vie et des sciences de la terre et de l'Univers, 2011.
22. Kaleem, W. A.; Naveed, M.; Khan , H.; Rauf , A., Pharmacological and Phytochemical Studies of Genus *Zizyphus*. *Middle-East Journal of Scientific Research* **2014**, *21* (8), 1243-1263.
23. Gao, Q. H.; Wu, C. S.; Yu, J. G.; Wang, M.; Ma, Y. J.; Li Li, C., Textural Characteristic, Antioxidant Activity, Sugar, Organic Acid, and Phenolic Profiles of 10 Promising Jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) Selections. *Food Science* **2012**, *77*, 1218-1225.
24. El Aloui , M.; Mguis , K.; Laamouri, A.; Albouchi , A.; Cerny, M.; Mathieu , C.; Vilarem , G.; Hasnaoui , B., Fatty acid and sterol oil composition of four Tunisian ecotypes of *Zizyphus zizyphus* (L.) H.Karst. *Acta Botanica Gallica: Botany Letters* **2012**, *159*, 25-31.
25. Mukhtar, H. M.; Ansari, S. H.; Ali, M.; Naved, T., New Compounds from *Zizyphus vulgaris*. *Pharmaceutical Biology* **2004**, *42* (7), 508–511.
26. Gast , M.; Chaker, S., Jujubier. *Encyclopédie berbère* 2004, pp 3979-3982.
27. Nisar, M.; Adzu, B.; Inamullah, K.; Bashir, A.; Ihsan, A.; Gilani , A. H., Antinociceptive and Antipyretic Activities of the *Zizyphus oxyphylla* Edgew. Leaves. *Phytotherapy Research* **2007**, *21*, 693-695.
28. Nisar, M.; Kaleem, W. A.; Qayum, M.; Marwat, I. K.; Zia-Al-Hak, M.; Ali, I.; Choudhary, M. I., Biological screening of *zizyphus oxyphylla* edgew stem. *Pak. J. Bot.* **2011**, *43*, 311-317.
29. Prashith Kekuda, T. R.; Vinayaka, K. S.; Mallikarjun, N.; Bharath , A. C.; Shailendra Kumar, B.; Rakesh Kumar , M. C.; Vinod Kumar , H. R., Antibacterial, Insecticidal and Free radical scavenging activity of methanol extract of *Zizyphus rugosa* Lam. (Rhamnaceae) fruit pericarp. *PHCOG J.* **2011**, *2*, 65-69.
30. Noutarki, M.; Setorki, M.; Hooshmandi, Z., The Antioxidant Effect of Sidr (*Zizyphusspina-Christi*) Leaf Extract Helping to Improve the Scopolamine Induced Memory Impairment in Male Rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2017**, *13* 13-24.

31. Asgarpanah, J.; Haghighat , E., Phytochemistry and pharmacologic properties of *Ziziphus spina christi* (L.) Willd. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2012**, *31* (6), 2332-2339.
32. Dinarvand, M.; Zarinkamar , F., Anatomy-taxonomy of the genus *ziziphus* in iran. *Iran. Journ. Bot.* **2006**, *12*, 36-41.
33. Shah, A. H.; Al-Bekairi, A.M; Qureshi , S.; Ageel , A. M., *Zizyphus sativa* Fruits: Evaluation of Some Biological Activities and Toxicity. *Phytotherapy Research* **1989**, *3*.
34. Walter, S. J.; Hall, D. W., A new species of *ziziphus* (rhamnaceae) from florida. *Rhodora* **1984**, *86*, 381-387.
35. Ghedira, K., *Zizyphuslotus* (L.)Desf.(Rhamnaceae):jubahiersauvage. *Phytothérapie* **2013**, 149-153.
36. Waston, L.; Dallwitz, M., J, The families of flowering plants,. Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr* **1992**, *77*, 133-138.
37. Punt, W.; Marks, A.; Hoen, P., Rhamnaceae,Review of palaeobotany and palynology,. **2003**, *123*, 57-66.
38. Rsaissi, N.; Bouhache, M., La lutte chimique contre le jujubier. *Transfert de technology en agriculture* 2002, pp 1-4.
39. Abdoul-Azize , S.; Bendahmane, M.; Hichami, A.; Dramane, G.; Simonin, A. M.; Benammar, C.; Sadou, H.; Akpona, S.; El Boustani, E.; Khan, N. A., Effects of *Zizyphus lotus* L.(Desf).Polyphenols on Jurkat cell signaling and proliferation. *International Immunopharmacology* **2013**, *15*, 364-371.
40. Boudraa, S. H., L.; Zidani, S.; Boudraa, H., Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. *Fruits* **2010**, *65*, 75–84.
41. Maraghni, M.; Gorai, M.; Neffati, M., Seed germination at different temperatures and water stress levels,and seedling emergence from different depth of *Zizyphus lotus*. *South African Journal of Botany* **2010**, *76*, 453–459.
42. Rsaissi , N. Le jujubier (*ziziphus lotus* (l.) Desf.) Dans la chaouia: importance, impact agroéconomique, biologie, activite antimicrobienne et strategie de mise en valeur des terres agricoles infestees. Faculté des Sciences et Techniques - Settat, 2013.
43. Gorai, M.; Maraghni , M.; Neffati, M., Relationship between phenological traits and water potential patterns of the wild jujube *Ziziphus lotus* (L.) Lam. in southern Tunisia. *Plant Ecology & Diversity* **2010**, *3*, 273–280.
44. Maraghni, M.; Gorai, M.; Neffati, M., The Influence of Water-Deficit Stress on Growth, Water Relations and Solute Accumulation in Wild Jujube (*Ziziphus lotus*). *Journal of Ornamental and Horticultural Plants* **2011**, *1*, 63-72.
45. Abdoul-Azize , S., Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus* L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. *Journal of Nutrition and Metabolism* **2016**, *2016*, 13.
46. El Hachimi, F.; El Antari, A.; Boujnah , M.; Bendrisse, A.; Alfaiz, C., Comparaison des huiles des graines et de la teneur en acides gras de différentes populations

- marocaines de jujubier, de grenadier et de figuier de barbarie. *J. Mater. Environ. Sci.* **2015**, *6* 1488-1502.
47. Borgi, W.; Recio, M. C.; Rios, J. L.; Chouchane, N., Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany* **2008**, *74*, 320–324.
 48. Ghazghazi, H. A., C.; Riahi, L.; Maaroufi, A.; Hasnaoui, B., Fatty acids composition of Tunisian *Zizyphus lotus* L. (Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural Product Research* **2014**, *28*, 1106–1110.
 49. Abdeddaim, M.; Lombarkia, O.; Bacha, A.; Fahloul, D.; Abdeddaim, D.; Farhat, R.; Saadoudi, M.; Noui, Y.; Lekbir, A., Biochemical characterization and nutritional properties of *Zizyphus lotus* L. Fruits in aures region, northeastern of Algeria. *Annals. Food Science and Technology* **2014**, *15*, 75-81.
 50. Chouaibi, M.; Mahfoudhi, N.; Rezig, L.; Donsi, F.; Ferrari, G.; Hamdi, S., Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2012**, *92* (6), 1171-1177.
 51. Hammi, K. M.; Hammami, M.; Rihouey, C.; Cerf, D. L.; Ksouri, R.; Majdoub, H., Optimization extraction of polysaccharide from Tunisian *Zizyphus lotus* fruit by response surface methodology: Composition and antioxidant activity. *Food Chemistry* **2016**, *212*, 476-484.
 52. Boulanouar, B.; Gherib, A.; Smail, A.; Gago, C.; Miguel, M. G., Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products* **2013**, *46*, 85–96.
 53. Elsherif, K.; Najah, Z., Analytical and phytochemical studies on *Zizyphus lotus*. *European Journal of Biomedical AND Pharmaceutical sciences* **2016**, *3*, 574-577.
 54. Hammi, K. M.; Jdey, A.; Abdelly, C.; Majdoub, H.; Ksouri, R., Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology. *Food Chem* **2015**, *184*, 80–89.
 55. Ghedira, K. C., R.; Richard, B.; Nuzillard, J.M.; Zeches, M.; Le Men-Olivier, L., Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* **1993**, *32*, 1591-1594.
 56. Naili, M. B.; Alghazeer, R. O.; Saleh, N. A.; Al-Najjar, N. A., Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Zizyphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry* **2010**, *3*, 79–84.
 57. Khouchlaa, A.; Bouyahya, A.; Ait Lahcen, S.; Bakri, Y.; Dakka, N.; Tijane, M., Phytochemical screening, evaluation of antioxidant activity and litholytic effect of *Zizyphus lotus* L. Extracts. *World Journal of Pharmaceutical Research* **2017**, *6*, 1354-1367.
 58. Maciuk, A.; Lavaud, C.; Thépenier, P.; Jacquier, M. J.; Ghédira, K.; Zèches-Hanro, M., Four New Dammarane Saponins from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products* **2004**, *67*, 1639-1643.
 59. Ghedira, K. C., R.; Caron, C.; Nuzillard, J.M.; Zeches, M.; Le Men-Olivier, L., Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* **1995**, *38*, 767- 772.
 60. Le Croueour, G.; Thepenier, P.; Richard, B.; Petermann, C.; Ghedira, K.; Hanrota, M. Z., Lotusine G: a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*. *Fitoterapia* **2002**, *73* 63-68.

61. Benslama, A.; Harrar, A.; Gul, F.; Demirtas, I., Phenolic Compounds, Antioxidant and Antibacterial Activities of Zizyphus lotus L. Leaves Extracts. *The Natural Products Journal* **2017**, 7 (4), 316-322.
62. Benammar, C.; Hichami, A.; Yessoufou, A.; Simonin, A. M.; Belarbi, M.; Allali, H.; Khan, N. A., Zizyphus lotus L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *Biomed Centarl* **2010**, 10, 1-9.
63. Marmouzi, I.; Kharbach, M.; El Jemli, M.; Bouyahya, A.; Cherrah, Y.; Bouklouze, A.; Heyden, Y. V.; Faouzi, M. E., Antidiabetic, dermatoprotective, antioxidant and chemical functionalities in Zizyphus lotus leaves and fruits. *Industrial Crops & Products* **2019**, 132, 134-139.
64. Renault, J. H. G., K.; Thepenier, P.; Lavaud, C.; Hanrot, M.Z.; Le Men-Olivier , L., Dammarane saponins from zizyphus lotus. *Phytochemistry* **1997**, 44, 1321-1327.
65. Benammar, C.; Baghdad, C.; Belarbi, M.; Subramaniam, S.; Hichami, A.; Khan, N. A., Antidiabetic and Antioxidant Activities of Zizyphus lotus L Aqueous Extracts in Wistar Rats. *J Nutr Food Sci* **2014**, 1-6.
66. Borgi, W.; Chouchane, N., Anti-spasmodic effects of zizyphus lotus (L.) Desf. extracts on isolated rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology* **2009**, 126, 571-573.
67. Rais, C.; Benidir , M.; Slimani , C.; EL-Ouazna , B.; Ettadili , H.; ElHanafi , L.; EL Ghadraoui, L.; Benjelloun , M., Antimicrobial and radical scavenging activities of Moroccan Zizyphus lotus L. seeds. *The Journal of Phytopharmacology* **2019**, 8, 155-160.
68. Rsaissi , N.; KAMILI, E.; Bencharki , B.; Hillali , L.; Bouhache, M., Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube "Zizyphus Lotus (L.) Desf. *International Journal of Scientific & Engineering Research* **2013**, 4, 1521-1528.
69. Belmaghraoui, W.; El Madani, N.; Mann, A.; Harir, M.; Filali-Maltouf, A.; El Hajjaji, S.; El Fatni, O. K., Total phenolic and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activity of zizyphus lotus from morocco. *pharmacologyonline* **2018**, 3, 176-183.
70. El Hachimi , F.; Alfaiz , C.; Bendriss , A.; Cherrah , Y.; Alaoui, K., Activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de Zizyphus lotus (L.). *Phytothérapie* **2017**, 15, 147-154.
71. Lahlou, M.; El Mahi, M.; Hamamouchi, J., Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan Zizyphus lotus (L.) Desf. *Ann. Pharm. Fr* **2002**, 60, 410-414.
72. Elaloui, M.; Ennajah, A.; Ghazghazi, H.; Ben Youssef, I.; Ben Othman, N.; Hajlaoui, M. R.; Khouja, A.; Laamouri, A., Quantification of total phenols, flavonoides and tannins from Zizyphus jujuba (mill.) and Zizyphus lotus (l.) (Desf). Leaf extracts and their effects on antioxidant and antibacterial activities. *Int. J. Sec. Metabolite* **2017**, 4, 18-26.
73. Adeli, M.; Samavati, V., Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from Zizyphus lotus fruit. *Int. J. Biol. Macromol.* **2015**, 72, 580-587.
74. Perdue, J. R.; Hartwell, J. L., Plants and cancer. Proc. 16th Annual Meeting Soc. Econ. Bot. . *Cancer Treatment Rep* **1976**, 60, 973-1215.

75. Oh, M. H.; Houghton, P. J.; Whang, K. W.; Cho, J. H., Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anticholinesterase activity. *Phytomedicine* **2004**, *11*, 544-548.
76. Tlili, H.; Hanen, N.; Ben Arfa, A.; Neffati, M.; Boubakri, A.; Buonocore, D.; Dossena, M.; Verri, M.; Doria, E., Biochemical profile and in vitro biological activities of extracts from seven folk medicinal plants growing wild in southern Tunisia. *PLOS ONE* **2019**, *14*, 1-18.
77. Cheurfa, M.; Allem, R.; Zabel, K.; Aichouni, W.; Medjkane, M., Étude des effets des extraits des racines de *Glycyrrhiza glabra* L. et *Zizyphus lotus* L. sur quelques bactéries pathogènes de l'Homme. *Phytothérapie* **2017**, 1-7.
78. Saiah, H.; Allem, R.; El Kebir, F., Antioxidant and antibacterial activities of six Algerian medicinal plants. *Int J Pharm Pharm Sci* **2016**, *8* (1), 367-374.
79. Abderrahim, L. A.; Taïbi, K.; Abderrahim, C. A., Assessment of the antimicrobial and antioxidant activities of *Zizyphus lotus* and *Peganum harmala*. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science* **2019**, *43* (2), 409-414.
80. Rocchetti, G.; Alcántara, C.; Bäuerl, C.; García-Pérez, J. V.; Lorenzo, J. M.; Lucini, L.; Collado, M. C.; Barba, F. J., Bacterial growth and biological properties of *Cymbopogon schoenanthus* and *Zizyphus lotus* are modulated by extraction conditions. *Food Research International* **2020**, *136*, 109534.
81. Rachid, A.; Rabah, D.; Farid, L.; Zohra, S. F.; Houcine, B.; Nacéra, B., Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research* **2012**, *6* (10), 2041-2050.
82. Wahida, B.; Abderrahman, B.; Nabil, C., Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Journal of Ethnopharmacology* **2007**, *112* (2), 228-231.
83. Baddade, L.; Berkani, M.; Oubenali, M.; Ali, A. B.; Mbarki, M., Activité anti-lithiasique des extraits aqueux des fruits de l'Arbutus Unedo et de l'amande de *Zizyphus Lotus*. *International Journal of Innovation and Applied Studies* **2019**, *25* (3), 1100-1106.
84. Baddade, L.; Elbir, M.; Mbarki, M.; Elhadri, I.; Berkani, M., *Zizyphus lotus* anti-lithiasis activity in vitro of aqueous extracts of pulp fruit in human urine. *J Master Environ Sci* **2019**, *10*, 520-5.
85. Bencheikh, N.; Bouhrim, M.; Kharchoufa, L.; Choukri, M.; Bnouham, M.; Elachouri, M., Protective effect of *Zizyphus lotus* L.(Desf.) fruit against CCl₄-induced acute liver injury in rat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2019**, 2019.
86. Sen, S.; Chakraborty, R.; De, B.; Ganesh, T.; Raghavendra, H.; Debnath, S., Analgesic and anti-inflammatory herbs: a potential source of modern medicine. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **2010**, *1* (11), 32.
87. Abdoul-Azize, S.; Bendahmane, M.; Hichami, A.; Dramane, G.; Simonin, A. M.; Benammar, C.; Sadou, H.; Akpona, S.; El Boustani, E.; Khan, N. A., Effects of *Zizyphus lotus* L.(Desf).Polyphenols on Jurkat cell signaling and proliferation. *International Immunopharmacology* **2012**, *15*, 364-371.
88. Anand, K. K. S., B.; Chand, D.; Chandan, B.K.; Gupta, V.N., Effect of *zizyphus sativa* leaves on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* **1989**, *27*, 121- 127.

89. Liu, G.; Liu, X.; Zhang, Y.; Zhang, F.; Zei, T.; Yang, M.; Wang, K.; Wang, Y.; Liu, N.; Cheng, H.; Zhao, Z., Hepatoprotective effects of polysaccharides extracted from *Zizyphus jujube* cv. Haunghetanza. *J. Biol. Macromol* **2015**, 1-7.
90. Adzu, B.; Amos, S.; Amizan, M. B.; Gamaniel, K., Evaluation of the antidiarrheal effects of *Zizyphus spinachristi* stem bark in rats. *Acta Trop* **2003**, 87, 245–250.
91. Wang, D.; Zhao, Y.; Jiao, Y.; Yu, L.; Yang, S.; Yang, X., Antioxidative and hypatoprotective effects of polysaccharides from *zizyphus jujube* cv. Shaanbeitanza. *Carbohydrate Polymers* **2012**, 88, 1453-1459.
92. Ji, X.; Peng, Q.; Yuan, Y.; Shen, J.; Xie, X.; Wang, M., Isolation, structures and bioactivities of the polysaccharides from jujube fruit (*Ziziphus Jujuba* Mill.): A review *Food Chemistry* **2017**.
93. Memarpour-Yazdi, M.; Mahaki, H.; Zare-Zardini, H., Antioxidant activity of protein hydrolysates and purified peptides from *Zizyphus jujuba* fruits. *Journal of function al foods* **2013**, 5, 62–70.
94. Saadoudi, M.; Hambaba, L.; Abdeddaim, M.; Lekbir, A.; Bacha, A.; Boudraa, S.; Zidani, S., Nutritional composition, physical properties and sensory evaluation of biscuit produced from jujubes (fruits of *zizyphus lotus* l.). *Annals. Food Science and Technology* **2017**, 18, 395-401.
95. Elaloui, M.; Laamouri, A.; Fabre, J.; Mathieu, C.; Vilarem, G.; Hasnaoui, B., Distribution of free amino acids, polyphenols and sugars of *Ziziphus jujuba* pulps harvested from plants grown in Tunisia. *Natural Product Research* **2015** 29, 94–97.
96. Loveness, K. N.; Tendekayi, H. G.; Martinus, J. R. N.; Eddy, J. S.; Teun, B.; Marcel, H. Z., Nutritive value of masau (*Ziziphus mauritiana*) fruits from Zambezi Valley in Zimbabwe. *Food Chemistry* **2013**, 138 168-172.
97. Koley, T. K.; Kaur, C.; Nagal, S.; Walia, S.; Jaggi, S.; Sarika, Antioxidant activity and phenolic content in genotypes of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lamk.). *Arabian Journal of Chemistry* **2011**.
98. Lecerf, J. M., les huiles végétales : particularité et utilités. *Médecine des maladies Métaboliques* **2011**, 5 257 - 262.
99. Cahuzac-Picaud, M., Les huiles végétales, intérêt diététique et gastronomique. *Phytothérapie* **2010**, 113–117.
100. Bucci, R.; Magri, A. D.; Magri, A. L.; Marini, D.; Marini, F., Chemical authentication of extra virgin olive oil varieties by supervised chemometric procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, 413–418.
101. Roncero, J. M.; Álvarez-Ortí, M.; Pardo-Giménez, A.; Gómez, R.; Rabadán, A.; Pardo, J. E., Virgin almond oil: Extraction methods and composition. *Grasas Aceites* **2016**, 67 1-9.
102. Lin, courge, sésame, chia... Mangeons des graines! <https://www.france-assos-sante.org/2014/11/10/lin-courge-sesame-chia-mangeons-des-graines/?fbclid=IwAR08UbYf8XfuaWFijer9o06-PbQtMUmQC7ATkbdlfMCeZm5JkPTYwCeJfTY>.
103. Zovi, O. Fonctionnalisation et photopolymérisation de l'huile de lin en vue de l'élaboration de nouveaux matériaux sans émissions de composés organiques volatiles (COV). INSA de Rouen, 2009.

104. Prades, A. Les plantes oleagineuses. https://agritrop.cirad.fr/567885/1/document_567885.pdf?fbclid=IwAR0f513zag0e01fSL217oH9d7WSkg9cUhsM8qDFS3824zFcRz7j-9alx9fE.
105. Ignat, I.; Volf, I.; Popa, V. I., A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry* **2011**, *126*, 1821–1835.
106. Lucchesi, M. E. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Université de la Réunion Faculté des Sciences et Technologies, 2005.
107. Boukhatem, M. N. F., A.; Kameli, A., Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une* **2019**, *3*, 4.
108. Murga, R.; Ruiz, R.; Beltrán, S.; Cabezas, J., Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. *Journal of agricultural and food chemistry* **2000**, *48*, 3408-12.
109. Cravotto, G.; Boffa, L.; Mantegna, S.; Perego, P.; Avogadro, M.; Cintas, P., Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics sonochemistry* **2008**, *15* (5), 898-902.
110. Terigar, B.; Balasubramanian, S.; Sabliov, C.; Lima, M.; Boldor, D., Soybean and rice bran oil extraction in a continuous microwave system: From laboratory-to pilot-scale. *Journal of Food Engineering* **2011**, *104* (2), 208-217.
111. Goula, A. M.; Ververi, M.; Adamopoulou, A.; Kaderides, K., Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics sonochemistry* **2017**, *34*, 821-830.
112. Zhang, Q.-A.; Zhang, Z.-Q.; Yue, X.-F.; Fan, X.-H.; Li, T.; Chen, S.-F., Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder. *Food Chemistry* **2009**, *116* (2), 513-518.
113. Bogaert, L. Étude et modélisation du pressage continu des graines oléagineuses. Compiègne, 2017.
114. Lagane, C. Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-a-vis de candida albicans. Implication de ppar- γ . thèse de doctorat, Université toulouse III – Paul sabatier -U.F.R. Des sciences de la vie et de la santé, 2007.
115. Drouin, G. Métabolisme et intérêt nutritionnel de l'acide docosapentaénoïque n-3: modulation du statut tissulaire en acides gras n-3 par les lipides laitiers alimentaires chez le rat. 2018.
116. Nonviho, G. Valorisation chimique de la biomasse oléagineuse d'origine béninoise: *Lophira lanceolata* et *Carapa*. Université de Lorraine, 2018.
117. Cuvelier, C.; Cabaraux, J.-F.; Dufrasne, I.; Hornick, J.-L.; Istasse, L. In *Acides gras: nomenclature et sources alimentaires*, Annales de Médecine Vétérinaire, Annales Medecine Veterinaire: 2004; pp 133-140.
118. Morin, O.; Pagès-Xatart-Parès, X., Huiles et corps gras végétaux: ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **2012**, *19* (2), 63-75.

119. Lecerf, J.-M., L'huile de palme: aspects nutritionnels et métaboliques. Rôle sur le risque cardiovasculaire. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **2013**, 20 (3), 147-159.
120. Graisses et acides gras dans la nutrition humaine. <http://www.fao.org/3/i1953f/i1953f.pdf>.
121. Kamel-eldine, A.; Andersson, R., A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **1997**, 74 375–380.
122. Jahouach, W. Study of the physicochemical properties of the olive oils and olive residue faded by the Tunisian clays activated with the ultrasonic waves. doctorat, Faculte Sciences de Sfax, Tunisie, 2009.
123. Mariani, C.; Bellan, G.; Morchio, G.; Pellegrino, A., Free and esterified minor components of olive and hazelnut oils: Their potential utilisation in checking oil blend. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* **1999**, 76, 297–305.
124. Vichi, S.; Pizzale, L.; Toffano, E.; Bortolomeazzi, R.; Conte, L., Detection of hazelnut oil in virgin olive oil by assessment of free sterols and triacylglycerols. *ournal of AOAC International* **2001**, 84, 1534–1541.
125. Canabate-Díaz, B.; Segura-Carretero, A.; Fernandez-Gutiérrez, A.; Belmonte Vega, A.; Garrido Frenich, A.; Martínez-Vidal, J. L.; Duran Martos, J., Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. *Food Chemistry* **2007**, 102, 593–598.
126. Ollivier, V.; Ollivier, D.; Artaud, J. Analyse des lipides - Constituants mineurs, qualité et authenticité. <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesures-analyses-th1/analyse-des-macromolecules-biologiques-42380210/analyse-des-lipides-p3327/>.
127. Dallongeville, J., Vitamines et prévention de maladies cardiovasculaires: quelles preuves? *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **2009**, 44 (5), 225-229.
128. Testud, A. Rôle de la vitamine E dans la prévention du risque cardiovasculaire. doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble, 2001.
129. Ju, J.; Picinich, S. C.; Yang, Z.; Zhao, Y.; Suh, N.; Kong, A.-N.; Yang, C. S., Cancer-preventive activities of tocopherols and tocotrienols. *Carcinogenesis* **2010**, 31 (4), 533-542.
130. Berman, K.; Brodaty, H., Tocopherol (vitamin E) in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *CNS drugs* **2004**, 18 (12), 807-825.
131. Chouaibi, M.; Mahfoudhi, N.; Rezig, L.; Donsi, F.; Ferrari, G.; Hamdi, S., A Comparative Study on Physicochemical, Rheological and Surface Tension Properties of Tunisian Jujube (*Zizyphus lotus* L.) Seed and Vegetable Oils. *International Journal of Food Engineering* **2012**, 8, 1-20.
132. Mengounou, G. M.; Imano, A. M.; Vardamides, J., Analyse des propriétés physico-chimiques de l'huile de palmistes transesterifiée. *Sciences, Technologies et Développement, Edition spéciale* **2016**, 210-212.
133. Anwar, F.; Kamal, G. M.; Nadeem, F.; Shabir, G., Variations of quality characteristics among oils of different soybean varieties. *Journal of King Saud University-Science* **2016**, 28 (4), 332-338.

134. Raharinaivo, A.; André, D., Les revêtements organiques : connaissances actuelles*. *Matériaux & Techniques* **1988**, 76 (6), 17-22.
135. Barakat, E. Matières grasses et cuisson. https://www.edp-nutrition.fr/images/stories/focus/2014/Nut33_cuissonOK.pdf.
136. Leverage, X., Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **2009**, 44, 219-224.
137. Rochette, L., Stress oxydant et sepsis. *Réanimation* **2008**, 17, 1-4.
138. Gambini, J.; Granier, R., Effets indésirables des rayons X. EMC - Radiologie et imagerie médicale : Principes et techniques. *Radioprotection* **2013**, 1-20.
139. Guillouty, A. Plantes médicinales et antioxydants. Rapport de thèse, Université toulouse III paul sabatier, 2016.
140. Mercier, J.; Godard, P., *Chimie organique*. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes.: 1995.
141. Gardes-Albert, M. B.-R., D.; Abedinzadeh, Z.; Jore, D., Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité chimique* **2003**, 277-278, 57-64.
142. Desmier, T. Les antioxydants de nos jours : définition et application. Rapport de thèse, Université de limoges -Faculté de pharmacie, Limoges, 2016.
143. Fontaine, E., Radicaux libres et vieillissement. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **2007**, 42, 110-115.
144. Beaudeau, J.-L. D., G., *Biochimie médicale - Marqueurs actuels et perspectives*. (2e ed.) ; Médecine sciences publications / Lavoisier: 2011.
145. Mathieu, M.; Blanc, D.; Forquet, F., Séminaire Ketty Schwartz 2009: Auto-immunité et maladies. Inserm: 2009.
146. Bartosz, G., Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comm Toxicol* **2003**, 9, 5-21.
147. Proffit, M., Effets de l'ozone sur les interactions entre plantes et pollinisateurs. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail* **2019**, (14), 44-45.
148. Baeza, A.; Marano, F., Pollution atmosphérique et maladies respiratoires. *médecine/sciences* **2007**, 23, 497-501.
149. Favier, A., Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises* **2006**, 64, 390-396.
150. El Omri, N.; Mekouar, F.; Assoufi, N.; El Khader, S.; Jira, M.; Sekkach, Y.; Elqatni, M.; Elkhatabi, A.; Amezyane, T.; Ghafir, D. In *Quel statut du stress oxydatif chez les diabétiques de type 2 marocains?*, Annales d'Endocrinologie, Elsevier: 2016; p 513.
151. Tolba, I. Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus. Université du Québec, 2016.
152. Wainsten, J., *Le Larousse Médical*. Larousse: Paris, 2009.
153. Lehucher-Michel, M. P. L., J. F.; Delubac, O.; Stocker, P.; Durand, P.; Prost, M., Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale* **2001**, 30, 1076-1081.

154. Huang , D.; Ou , B.; Prior , R., The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays *J. Agric. Food Chem* **2005**, *53*, 1841-1856.
155. Stevenson, D. H., R., Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? *Cellular and Molecular Life Sciences* **2007**, *64*, 2900-2916.
156. Michel, J. Classification et influences des polyphénols du bois de chêne sur la qualité sensorielle des vins (Application du procédé OakScan®). Université de Bordeaux Ségalen (Bordeaux 2), 2012.
157. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Remesy, C.; Jimenez, L., Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* **2004**, *79*, 727-747.
158. El Gharras, H., "Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology* **2009**, *44*, 2512-2518.
159. Peng, R. M.; Lin, G. R.; Ting, Y.; Hu, J. Y., Oral delivery system enhanced the bioavailability of stilbenes: Resveratrol and pterostilbene. *BioFactors* **2018**, *44* (1), 5-15.
160. Pérez-Jiménez, J. N., V.; Vos, F.; Scalbert, A., Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages: An Application of the Pheno Explorer Database. *J. Agric. Food Chem* **2010**, *58*, 4959-4969.
161. Markulin, L. Les voies de synthèse des lignanes chez les linacées: quels gènes et quelles protéines pour quels lignanes? École doctorale Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (Centre-Val de Loire) en partenariat avec Laboratoire de biologie des ligneux et des grandes cultures (Orléans) (laboratoire) . 2017.
162. Pelli, K.; Lyly, M., Les antioxydants dans l'alimentation. *VTT Biotechnology* 2003, p 28.
163. Matkowski, A., Plant phenolic metabolites as antioxidants and mutagenesis inhibitors. *Cell biology and instrumentation: UV radiation, nitric oxide and cell death in plants* **2006**, 129-148.
164. Guillard, J.-C., Vitamines et récupération. *Cahiers de l'INSEP* **2000**, *27* (1), 67-84.
165. Kaiser, S. P.; Di Mascio, M. E.; Murphy; Sies, H., Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **1990**, *277*, 101-108.
166. Sato, R.; Helzlsouer, K. J.; Alberg, A. J.; Hoffman, S. C.; Norkus, E. P.; Comstock, G. W., Prospective study of carotenoids, tocopherols, and retinoid concentrations and the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* **2002**, *11* (5), 451-457.
167. Cuvelier, C.; Dotreppe, O.; Istasse, L., Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét* **2003**, *147*, 315-324.
168. Rolland, Y., Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **2004**, *11* (6), 419-424.
169. Sekli-Belaidi, F. Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3, 4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique: application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2011.

170. Nicol , M.; Maudet , M., Caroténoïdes et vitamine A. Actualités. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* **2000**, 7, 266-70.
171. Ojima, F. S., H.; Ishiguro, Y.; Terao, J., Consumption of carotenoids in photosensitized oxidation of human plasma and plasma low-density lipoprotein. *Free Radical Biology and Medicine* **1993**, 15, 377-384.
172. Prior, R. L. W., X.; Schaich, K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, 53, 4290-4302.
173. Wright, J. S.; Johnson; Johnson, E. R.; DiLabio, G., Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J. Am. Chem. Soc* **2001**, 123, 117-1183.
174. Re , R.; Pellegrini , N.; Proteggente , A.; Pannala , A.; Yang, M.; Rice-Evanse, C., Antioxidant activity applying an improvised ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* **1999**, 26, 1231-1237.
175. Schlesier, K.; Harwat, M.; Bohm, V.; Bitsch, R., Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research* **2002**, 36, 177-187.
176. Awika, J.; Rooney, L.; Wu, X.; Prior, R.; Cisneros-Zevallos, L., Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (sorghum bicolor) and sorghum products. *J Agric Food Chem.* **2003**, 51 (23), 6657-62.
177. Mensor , L. I.; Menezes, F. S.; Leitaog, G.; Reis , A. S.; Dos Santos , T.; Coube , C. S.; Leitao, S. G., Screening of Brazilian plants extracts for antioxidants activity by the use ofDPPH free radical method. *Phytother. Res* **2001**, 15, 127-130.
178. Amao , M., Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals:a practice case. *Tr Food Sc Tehnol.* **2000**, 11, 419-421.
179. Ozcelik, B.; Lee, J.; Min , D., Effects of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. *J, Food Sci* **2003**, 68, 487-490.
180. Pellegrini, N. S., M.; Colo, B.; Del Rio, D.; Salvatore, S.; Bianchi, M.; Brighenti, F., Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. *The Journal of Nutrition* **2003**, 133, 2812–2819.
181. Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich , K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, 53, 4290-4302.
182. Archambaud, M., Méthode d'évaluation de l'activité des antibiotiques. *Brûlures* **2000**, 1.
183. Yala, D. M., A. S.; Mohamedi, D.; Ouar Korich, M.N., Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghre* 2001, pp 5-12.
184. Mangin, L. Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse, Université de lorraine faculté de pharmacie, 2016.
185. Lesseur, P. Antibiotiques : modes d'action, mécanismes de la résistance. <https://devsante.org/articles/antibiotiques-modes-d-action-mecanismes-de-la-resistance>.

186. Diallo, A. A. Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier, Ecole doctorale : Biologie-Santé-Biotechnologies, 2013.
187. Escherichia coli entérohémorragiques (EXEH). <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/escherichia-coli>.
188. Chaker , H. Régulation de l'adaptation de de la bactérie Pseudomonas aeruginosa à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Université de Grenoble école doctorale ingénierie pour la santé, la cognition et l'environnement (EDISCE, 2012.
189. Elmeskini, K. Etude épidémiologique des infections à Pseudomonas aeruginosa. Thèse de doctorat, Université mohammed V -Faculte de médecine et de pharmacie -rabat, Rabat, 2011.
190. Bouskraoui M. , B. A., Zouhair S. , Zerouali K. , Soraa N. , Mahmoud M. Guide pratique des bactéries pathogènes. <https://pharmacie.ma/uploads/pdfs/Le-guide-pratique-des-bacteries-pathogenes.pdf>.
191. Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococciques. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0117Fi.pdf>.
192. Cardinale, V. Les candidoses vaginales recidivantes a Candida albicans. UHP- Université Henri Poincaré, 2001.
193. Sarazin, A. Les glycannes pariétaux de levures et leur implication dans l'induction et la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2010.
194. Lakhdar , L. Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur aggregatibacter actinomycetemcomitans : étude in vitro. Rapport de thèse, Université mohammed 5-Faculte de médecine dentaire de rabat centre d'études doctorales des sciences de la vie, 2015.
195. Kamagate, A. K., D.; Coulibaly, Nt.; Brou, E.; Sixou, M., Etude comparative de differentes methodes d'evaluation de la sensibilite aux antibiotiques des bacteries anaerobies strictes de la flore sous-gingivale.
196. Pottier, A. G., *Flora of Tunisia Angiospermes-Dicotyledones, Apetales-Dialypetales. Programme Flore et Végétation Tunisiennes, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et le Ministère de l'Agriculture, Tunis, Tunisia.* 1981.
197. Elaloui, M.; Laamouri, A.; Albouchi, A.; Cerny, M.; Mathieu, C.; Vilarem, G.; Hasnaoui, B., Chemical compositions of the Tunisian Ziziphus jujuba oil. *Emir. J. Food Agric.* **2014**, *26* 602-608.
198. Sekar, M.; Vishnu priya, N.; Ramesh, R.; Suresh kumar, G.; Divya bharati, A.; Abidha afsha, S., Formulation and evaluation of hair tonic from Ziziphus Jujuba leaf extract. *IJPCBS* **2016**, *6*, 447-454.
199. Shikha, A.; Yogesh, S., Formulation and evaluation of herbal cream containing extract of Ziziphus jujuba leaves for analgesic potential. *Research J. Pharma. Dosage Forms and Tech.* **2012**, *4*, 4(6): 320-323.
200. Akhtar, N.; Ijaz, S.; Khan, H., M.; Shoaib; Uzair, B.; Reich, A.; Khan, B., Ali; , Ziziphus mauritiana leaf extract emulsion for skin Rejuvenation,. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2016**, *15*.

201. Abbas, I. A., Ouarda *Essai de formulation d'une crème dessert enrichie par le fruit de Zizyphus lotus L*; Depot Institutionnel de l'UMBB, 2017; p 84.
202. Antzoulatos, V., Formulation. Centre national de documentation pédagogique: Centre national de documentation pédagogique (France), 2017; p. 216.
203. Maziane, A. Cosmétique et cosméceutiques. Thèse de doctorat, Université Mohamed V faculté de médecine et de pharmacie Rabat, Rabat, 2011.
204. Derras, M. B., M. Essais de mise au point de formulation d'une crème cosmétique hydratante anti âge. Université abou bekr belkaïd faculté de médecine
Dr. B. Benzerdjeb - Tlemcen, 2017.
205. Boulay, A. Les Conservateurs dans les Crèmes Hydratantes. <http://conservateursdescremeshydratantes.e-monsite.com/pages/les-conservateurs.html>.
206. Critères déterminant le choix des émulsifiants. <https://www.agir-crt.com/blog/criteres-determinant-choix-emulsifiants/>.
207. Louni , S. Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de Moringa oleifera. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, 2009.
208. Hashempour-Baltork, F.; Torbati, M.; Azadmard-Damirchi, S.; Savage, G. P., Vegetable oil blending: A review of physicochemical, nutritional and health effects. *Trends in Food Science & Technology* **2016**, *57*, 52-58.
209. Benrachou , N. Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d'huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie), 2012 - 2013.
210. Djenontin, S. T.; Dangou, J.; Wotto, D. V.; Sohounlhoue, K. C. D.; Lozano, P.; Pioch, D., Composition en acides gras, sterols et tocopherols de l'huile végétale non conventionnelle extraite des graines de jatropha curcas (euphorbiaceae) du benin. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* **2006**, *22*, 59 - 67.
211. Khoudali, S.; Benmessaoud left, D.; Essaqui, A.; Zertoubi, M.; Azzi , M.; Benaissa, M., Study of antioxidant activity and anticorrosion action of the methanol extract of dwarf palm leaves (*Chamaerops humilis L.*) from Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.* **2014**, *5* (3), 887-898.
212. Singleton , V. L.; Rossi , J. A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult* **1965**, *16*, 144-158.
213. Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jianming, W., The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* **1999**, *64*, 555-559.
214. Ladoh Yemeda , C. F.; Dibong , S. D.; Nyegue , M. A.; Djembissi Talla , R. P.; Lenta Ndjakou , B.; Mpondo, M.; Yinyang, J.; Wansi, J., Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences* **2014**, *84*, 7636– 7643.
215. Nouredine, A.; Saidat, B.; Bakchiche, B.; Maatallah, M., Etude comparative des indices d'activité antioxydante des essais du Cérium et du DPPH: Application sur trois

- plantes médicinales locales. *International Journal of Innovation and Applied Studies* **2015**, *13*, 681-690.
216. Hebi , M.; Eddouks, M., Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie* **2016**, *14*, 17-22.
 217. Sanchez-Moreno , C.; Larrauri, J.; Saura calisto, F., A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric* **1998**, *76* (2), 270-276.
 218. Sharififar , F.; Moshafi , M. H.; Mansouri S.H., S. H.; Khodashenas, M.; Khoshnoodi, M., In vitro evaluation of antibacterial and antioxydant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* **2007**, *18*, 800-805.
 219. Popovici , C. S., I.; Tylkowski , B., (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. . *e-Revue de génie industriel*.
 220. Karagözler, A.; Erdag, C.; Çalmaz Emek , Y.; Uygun, D. A., Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chem* **2008**, *111* (2), 400–407.
 221. Bentabet, N.; Boucherit-Otmani, Z.; Boucherit, K., Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Pharmacognosie* **2014**, 1-8.
 222. Gheffour, K.; Boucherit , K.; Boucherit-Otmani , Z., Phytochemical study and evaluation of the antioxidant activity of extracts of *Echinops spinosus*. *Phytothérapie* **2015**, *13*, 288–294.
 223. AFNOR, AFNOR. NF V. In *Dosage des cendres brutes*, 1977; pp 18-101.
 224. Cissé, I. Caractérisation des propriétés biochimiques et nutritionnelles de la pulpe de baobab des espèces endémiques de Madagascar et d'Afrique continentale en vue de leur valorisation. Montpellier SupAgro, 2012.
 225. Badreddine, A. Préparation et Caractérisation d'Extraits d'*Argania spinosa* et d'Huile d'Argan Et Evaluation de leurs Effets Neuroprotecteurs In Vivo et In Vitro. Thèse de doctorat, Université hassan i – Settat – Maroc faculté des sciences et techniques université de bourgogne Franche-Comté – dijon – France faculté des sciences gabriel, Settat.
 226. Chang, S. K. C.; Zhang, Y., Protein Analysis. In *Food Science Text Series*, 2017; pp 315-331.
 227. Mínguez-Mosquera, M. I.; Jaren-Galan, M., Kinetics of the Decolouring of Carotenoid Pigments. *J Sci Food Agric* **1995**, *67*, 153-161.
 228. Mosquera Mínguez , M. I.; Rejano , L.; Guandul, B.; Sanchez, A. H.; Garido , J., Color pigment, correlation in virgin olive oil. *J. Am. Oil. Chem* **1991**, *68*, 332_336.
 229. Tchègnon, A.; Tchibozo, M.; Anago, E.; Ahissou, H.; Mensah, G.; Agbangla, C., Composition en vitamines et en minéraux des graines de *Pterocarpus santalinoides* L'Hér. ex De.(Papilionoideae), une plante alimentaire et médicinale de l'Afrique de l'Ouest. *Tropicicultura* **2017**, *35* (1).
 230. Njoku, N. E.; Ubbaonu, C. N.; Alagbaoso, S.O; Eluchie, C. N.; Umelo, M. C., Amino acid profile and oxidizable vitamin content of *Synsepalum dulcificum* berry (miracle fruit) pulp. *Food Science & Nutrition* **2015**, *3*, 252–256.

231. Tchaida Martine , T. S. L. N. Essais de mises au point de formulation de cremes et laits corporels a base du beurre de karite du burkina faso. Thèse de doctorat, Université de ouagadougou unité de formation et de recherche en sciences de la sante (ufrsds), 2004.
232. Sugiyama, M.; Akita, M.; Alépée, N.; Fujishiro, M.; Hagino, S.; Handa, Y.; Ikeda, H.; Imai, N.; Jitsukawa, S.; Katoh, M., Comparative assessment of 24-hr primary skin irritation test and human patch test data with in vitro skin irritation tests according to OECD Test Guideline 439 (for quasi-drugs in Japan). *The Journal of toxicological sciences* **2018**, *43* (12), 751-768.
233. Abdeddaim, M. Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique.(*Celtis australis* L, *Crataegus azarolus* L, *Crataegus monogyna* J,*Elaeagnus angustifolia* L,. Rapport de thèse, Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sétif, 2016.
234. Ghalem , M. Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Zizyphus lotus* et *Anthyllis vulneraria*. thèse de doctorat, Université abou bekr belkaid – Tlemcen Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, 2014.
235. Codex alimentarius (Adoptée en 1999. Révisée en 2001, 2003, 2009, 2017, 2019. Amendée en 2005, 2011, 2013, 2015, 2019.). http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B210-1999%252FCXS_210f.pdf.
236. Ixtaina, Y. V.; Martinez, M. L.; Spotorno, v.; Mateo, C. M.; Maestri, D. M.; Diehl, B. W. K.; Nolasco , S. M.; Tomas, M. C., Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis* () **2011**, *24*, 166–174.
237. Calder, P. C., Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. *Mol. Nutr. Food Res* **2008** *52*, 885-897.
238. Chalon, S., Acides gras poly-insaturés et fonctions cognitives. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* Juillet - Août, 2001, pp 317-20.
239. Legrand, P., Les acides gras : structures, fonctions, apports nutritionnels conseilles. *Cah. Nutr. Diét.* 2007.
240. Bourre , J. M.; Dumont , O.; Durand , G., Effet-dose de l'acide oléique alimentaire. Cet acide est-il conditionnellement essentiel Oléagineux. *Corps Gras, Lipides* **2000**, *7*, 524-30.
241. Yang Chung, S.; Gang, L.; Jihyeung, J.; Guang Xun, L., Inhibition of inflammation and carcinogenesis in the lung and colon by tocopherols. *Ann. N. Y. Acad. Sci* **2010**, *1203*, 29-34.
242. Jiang, Q. C., S.; Shigenaga , M.K.; Ames, B.N., Gamma-tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am. J. Clin. Nutr* **2001**, *74*, 714-722.
243. Ju, J.; Picinich, S. C.; Zhihong, Y.; Zhao, Y.; Suh, N.; Kong, A. N.; Yang, C. S., Cancer-preventive activities of tocopherols and tocotrienols. *Carcinogenesis* **2010**, *31*, .533–542.

244. Schneider, C., Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition & Food Research* **2004**, *49*, 7 – 30.
245. Ikeda, I., Factors Affecting Intestinal Absorption of Cholesterol and Plant Sterols and Stanols. *J. Oleo Sci* **2015**, *64*, 9-18.
246. Wilt, T. J.; MacDonald, R.; Ishani, A., β -sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *BJU Int.* **1999**, *83*, 976-983.
247. Moon , D.-O.; Lee , K.-J.; Choi , Y. H.; Kim , G. Y., Sitosterol-induced-apoptosis is mediated by the activation of ERK and the downregulation of Akt in MCA-102 murine fibrosarcoma cells. *International Immunopharmacology* **2007**, *7*, 1044-1053.
248. Mukherjee, R.; Khattar, D.; Jaggi, M.; Singh; Kumar Method for treating cancer using betulinic acid rich herbal extract. 0116394A1, Juin 17, 2004.
249. Su , M.; Shyu , Y.; Chien , P., Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. *Food Chemistry* **2008**, *111*, 892-896.
250. Liua, L.; Sun, Y.; Laura, T.; Liang, X.; Ye, H.; Zeng, X., Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from Ilex kudingcha C.J. Tseng. *Food Chemistry* **2009**, *112*, 35-41.
251. MacWilliam , L. D., *Comparative Guide to Nutritional Supplements*. 2005.
252. Osborne , C.; McTyre , R.; Dudek, J.; Roche , K.; Scheuplein, R.; Silverstein, B.; Weinberg, M. S.; Salkeld , A. A., Evidence for the relationship of calcium to blood. *Nutr Rev* **1996**, 365-381
253. Shewry, P. R., Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of cereal science* **2007**, *46* (3), 239-250.
254. Lazzez, A.; Cossentini , M.; Khlif , M.; Karray, B., Etude de l'évolution des stérols, des alcools aliphatiques et des pigments de l'huile d'olive au cours du processus de maturation. *Journal de la société chimique de Tunisie* **2006**, *8*, 21 – 32.
255. Carence en vitamine A et xérophtalmie. <https://www.provisu.ch/fr/maladies-les-plus-frequentes/carence-en-vitamine-a-et-xerophthalmie.html>.
256. Agius, F.; González-Lamothe, R.; Caballero, J. L.; Muñoz-Blanco, J.; Botella, M. A.; Valpuesta, V., Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. *Nature biotechnology* **2003**, *21* (2), 177-181.
257. Fertout-Mouri, N. L., A.; Mehdadi, Z.; Bengherraz, Z., Activité antibactérienne de quatre extraits de Teucrium polium L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège* **2016**, *85*, 253 - 262.
258. Ganfon, H.; Houvohehou, J.-P.; Gabin , A.; Assanhou, A. G.; Bankole, H. S.; Gbenou, J., Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et des fractions de Anogeissus leiocarpa (DC) Guill. Et Perr. (Combretaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2019**, *13* (2), 643-651.
259. Aouadhi , C. G., H.; Hasnaoui , B.; Maaroufi , A., Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie. *Microbiol. Hyg. Alim.* **2013**, *25* (73), 9-14.
260. Rached, W.; Barros, L.; Ziania, B. E. C.; Bennaceur, M.; Calhella, R. C.; Heleno, S. A.; Alves, M. J.; Marouf, A.; Ferreira, I. C. F. R., HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening

- of phytochemical compounds and bioactive properties of different plant parts of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Food & Function* **2019**, *10*, 5898-5909.
261. Ghalem, M.; Murtaza, B.; Belarbi, M.; Akhtar Khan, N.; Hichami, A., Antiinflammatory and antioxidant activities of a polyphenol-rich extract from *Zizyphus lotus* L fruit pulp play a protective role against obesity. *Journal of Food Biochemistry* **2018**, *42* (6), e12689.
 262. Makhdar, N.; Anouar, A.; Bouyazza, L., Composition in fatty acids, sterols and tocopherols of vegetable oil extract from kernels of *Zizyphus lotus* L. *J. Mater. Environ. Sci.* **2019**, *10* (11), 1074-1082.
 263. Najjaa, H.; Ben Arfa, A.; Elfalleh, W.; Zouari, N.; Neffati, M., Jujube (*Zizyphus lotus* L.): Benefits and its effects on functional and sensory properties of sponge cake. *Plos one* **2020**, *15* (2), e0227996.
 264. Saleh, A. S.; Zhang, Q.; Chen, J.; Shen, Q., Millet grains: nutritional quality, processing, and potential health benefits. *Comprehensive reviews in food science and food safety* **2013**, *12* (3), 281-295.
 265. McKay, D. L.; Blumberg, J. B., A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* **2006**, *20* (8), 619-633.
 266. Arribas, C.; Pereira, E.; Barros, L.; Alves, M. J.; Calhelha, R. C.; Guillamón, E.; Pedrosa, M. M.; Ferreira, I. C., Healthy novel gluten-free formulations based on beans, carob fruit and rice: Extrusion effect on organic acids, tocopherols, phenolic compounds and bioactivity. *Food chemistry* **2019**, *292*, 304-313.
 267. Haddam, M.; Chimi, H.; Amine, A., Formulation d'une huile d'olive de bonne qualité. *OCL* **2014**, *21* (5), D507.
 268. Fitó, M.; Cladellas, M.; De la Torre, R.; Marti, J.; Munoz, D.; Schröder, H.; Alcántara, M.; Pujadas-Bastardes, M.; Marrugat, J.; López-Sabater, M., Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: a randomized, crossover, controlled trial. *European journal of clinical nutrition* **2008**, *62* (4), 570-574.
 269. Kuttan, R. B., P.; Nirmala, K; George, M.C., Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*). *Cancer letters* **1985**, *29* (2), 197-202.

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante de la flore marocaine, il s'agit du *Zizyphus lotus*. Dans une première partie de ce travail, nous avons caractérisé deux huiles extraites à partir des amandes du fruit du *Zizyphus lotus* ; l'une extraite par pression mécanique et l'autre par solvant organique. La caractérisation de ces huiles végétales a révélé la présence de l'acide oléique comme constituant majoritaire d'un taux de 66,8% et le total des acides gras insaturés est d'environ 84% dont les acides monoinsaturés représentent 69%. Le β -sitostérol représente le stérol principal avec un taux de 71%. L'analyse par HPLC des tocophérols de l'huile du *Zizyphus lotus* a montré l'existence du γ -tocophérol comme composant majoritaire avec un taux de 91.39 % à 100%.

L'évaluation de la capacité antioxydante in vitro par deux méthodes colorimétriques (DPPH et FRAP) a révélé que les deux extraits éthanoliques du *Zizyphus lotus* (amandes et pulpe du fruit) ont une activité antioxydante modérée, et la quantification des composés phénoliques totaux a montré que l'extrait éthanolique de la pulpe renferme une teneur en flavonoïdes de (3.62 mg EQ/g MS) plus importante que celle contenue dans l'extrait EEA des amandes (2.11mgEQ/g MS). Le taux de polyphénols est 3.32 mg EAG/g MS pour la pulpe est supérieure trois fois à celui des amandes (1.39 mg EAG/g MS). Par ailleurs, la détermination du pouvoir antibactérien à partir des extraits du *Zizyphus lotus* sur les microorganismes testés a montré que leur efficacité dépend de la nature de l'extrait ainsi que la souche bactérienne testée. Et les CMI sont aux alentours de 50 à 100 mg/mL.

Une deuxième partie de ce travail consistait à la détermination de la valeur nutritionnelle de la pulpe et des amandes du fruit du *Zizyphus lotus*. Cette étude a montré qu'elles contiennent

des quantités appréciables de nutriments. L'analyse par ICP a montré que ces deux parties sont riches en minéraux notamment en calcium, magnésium et potassium. L'étude de la composition des amandes a révélé la présence de la matière grasse environ 29,95% et une teneur en sucre totaux de l'ordre de 1.2% largement inférieure à celle détectée dans la pulpe (24,8%). Les deux parties du fruit contiennent des valeurs modérées en vitamine A et C, par conséquent cette composition répond aux besoins journaliers en ces nutriments. La richesse du fruit par ces éléments nutritifs essentiels nous a permis de l'intégrer dans la formulation de divers produits alimentaires.

La composition de l'huile des amandes de *Zizyphus lotus* en acides gras insaturés et polyphénols, stérols en tocophérols et en Vitamine A et c nous a conduit de l'intégrer dans la formulation des crèmes hydratantes comme matière grasse.

Mots clés : acides gras insaturés, activité antibactérienne, activité antioxydante, formulation, huile végétale, stérols, tocophérols.

Abstract

This study is part of the promotion of a plant of Moroccan flora, it is *Zizyphus lotus*. In the first part of this work, we characterized two oils extracted from the kernels of the fruit of *Zizyphus lotus*; one extracted by mechanical pressure and the other by organic solvent. The characterization of these vegetable oils revealed the presence of oleic acid as the major constituent at a rate of 66.8% and the total of unsaturated fatty acids is about 84% of which monounsaturated acids represent 69%. B-sitosterol represents the main sterol with a rate of 71%. HPLC analysis of the tocopherols in *Zizyphus lotus* oil showed the existence of γ -tocopherol as the major component with a level of 91.39% to 100%.

The evaluation of the antioxidant capacity in vitro by two colorimetric methods (DPPH and FRAP) revealed that the two ethanolic extracts of *Zizyphus lotus* (almonds and fruit pulp) have moderate antioxidant activity, and the quantification of total phenolic compounds has shown that the ethanolic extract of the pulp contains a flavonoid content of (3.62 mg EQ / g DM) greater than that contained in the EEA extract of almonds (2.11 mg EQ / g DM). The rate of polyphenols is 3.32 mg EAG / g MS for the pulp is three times higher than that of almonds (1.39 mg EAG / g MS). In addition, the determination of the antibacterial power from the extracts of *Zizyphus lotus* on the microorganisms tested showed that their effectiveness depends on the nature of the extract as well as the bacterial strain tested. And the MICs are around 50 to 100 mg / mL.

A second part of this work consisted in determining the nutritional value of the pulp and kernels of the *Zizyphus lotus* fruit. This study has shown that they contain significant amounts of nutrients. ICP analysis showed that these two parts are rich in minerals, especially calcium, magnesium and potassium. The study of the composition of the almonds revealed the presence

of fat about 29.95% and a total sugar content of about 1.2% much lower than that detected in the pulp (24.8%). Both parts of the fruit contain moderate values of vitamin A and C, therefore this composition meets the daily requirement for these nutrients. The richness of the fruit by these essential nutrients has allowed us to integrate it in the formulation of various food products.

The composition of the oil of *Zizyphus lotus* almonds in unsaturated fatty acids and polyphenols, sterols in tocopherols and in Vitamin A and c led us to include it in the formulation of moisturizers as a fat.

Key words: unsaturated fatty acids, antibacterial activity, antioxidant activity, formulation, vegetable oil, sterols, tocopherols.