

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITE DE
BLIDA 1

Faculté de science de la Nature et de la Vie DEPARTEMENT DE
BIOTECHNOLOGIE ET AGRO-ECOLOGIE Mémoire en vue de
l'obtention de diplôme de master académique Biotechnologie
végétale et valorisation des plantes

**Thème : Evaluation des activités antioxydant et antimicrobienne
des métabolites secondaires de zizyphus lotus L**

Présenté par

M^{elle} Laadjali Maroua
M^{me} Tchantchane imane

Soutenu devant les jurys:

| | | | |
|---------------|-----|------|--------------|
| Mme Ganai R | MCA | USDB | Examinatrice |
| Mme Tadjine N | MAB | USDB | Promotrice |
| Mme Moumene S | MCA | USDB | Présidente |

Année universitaire: 2021/2022



Remerciement

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

Nous tenons à remercier profondément :

Notre promotrice Madame Tadjine Nacéra pour avoir accepté de nous encadrer dans cette étude. On la remercie pour son implication, et son soutien tout au long de ce travail.

Aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail, Présidente du jury Mme Ghanai R et l'examinatrice Mme Moumen Saida

Nos remerciements les plus vifs s'adressent à Mr Bouarar W, Mme Bouarar N, Mr Ben Malem et pour leur aide précieuse, leur gentillesse et leur esprit scientifique

Nos vifs remerciements et notre vive gratitude vont aussi à nos enseignants de tous les niveaux d'enseignement, qui grâce à eux nous sommes arrivés à cette étape.

À tous ceux qui de près ou de loin ont aidé à la réalisation de ce travail.

Merci

Dédicace

Avant tout, je tiens à remercier Dieu le tout puissant qui m'a donné la santé, la volonté et la patience pour réaliser ce travail . الحمد لله .

Je dédie ce travail à mes parents qui ont toujours été présents pour moi à tout moment et dans toutes les situations spécialement mon paradis maman chérie que dieu te garde pour moi, sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts que vous avez déployé durant toute ma vie ce travail n'aurait jamais pu être réalisé, je vous aime

A ma chère sœur Samia ma deuxième maman pour le soutien et les encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.

A ma chère Soumia Merci d'être toujours là pour moi, merci de m'avoir supportée, tu me redonnes toujours confiance en moi. Que dieu te bénisse, te donne la force et le courage.

A mes chères amis Marcua, Imane et Raya Que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

A mes chères Feriel, Fatima pour toutes les moments qu'on a passé ensemble .

Marcua

Dédicace

A ceux qui m'ont tout donné sans attendre en retour. A ceux qui m'ont encouragée et soutenue durant toutes mes années d'études : mes parents tous les mots sont insuffisants pour exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mon amour. Ce travail est un fruit de vos sacrifices qui vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

Que le tout puissant les garde et les protégéa mes parents Samir et Souad

A mes grands-mères Zhor et Meriem (rebiyerhamhom)

A mes frères Walid et Mohamed

A Mon Cher Mari Mr Benkara Fares

A Mon fils Benkarakhaled Chahin

A mes beaux-parents Mohamed et Damia

A mon beau-frère Islam

A ma belle-sœur Bahia

A tout le membre de ma famille grande et petite

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

A mon binôme, mon compagnon Marcua

Merci pour vos encouragements, votre soutien moral, dont je suis reconnaissante. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur

Imane

Résumé

Zizyphus lotus est une plante de la famille des Rhamnaceae sauvage ; il s'agit d'une essence médicinale fréquemment utilisée par la population algérienne. L'espèce *Z. lotus* L. est très étudiée en pharmacologie pour ses vitamines A et E. L'objectif de notre travail est de contribuer à la connaissance de l'espèce *Zizyphus lotus*, en évaluant leurs activités biologiques, et en déterminant leur pouvoir anti bactérienne. Sur le plan qualitatif. L'étude réalisée in vitro sur l'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Zizyphus lotus* a montré que l'extrait éthanolique a donné une valeur de (IC₅₀= 554.6± 0.001 µg.mL⁻¹) présente une activité antioxydante importante par rapport à l'acide ascorbique testé. Quant à l'activité antibactérienne, l'extrait des feuilles de *Zizyphus. Lotus* a présenté une inhibition modérée sur la croissance bactérienne des deux souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* testées (souches de référence). L'étude du pouvoir antimicrobien des isolats bactériens des mains de bénévolat a montré que seuls les isolats bactériens *Staphylococcus aureus*, non identifiée présentent une activité antibactérienne modéré.

Mots clés : *Zizyphus lotus*, extraits, isolats, *Staphylococcus aureus*, activité antioxydante, activité antibactérienne

Abstract

Zizyphus lotus is a plant of the wild Rhamnaceae family; it is a medicinal essence frequently used by the Algerian population. The species *Z. lotus* L. is widely studied in pharmacology for its vitamin A and E. The objective of our work is to contribute to the knowledge of the species *Zizyphus lotus*, by evaluating their biological activities, and by determining their potency anti bacterial. Qualitatively. The study carried out in vitro on the antioxidant activity of *Zizyphus lotus* leaf extracts showed that the ethanolic extract gave a value of ($IC_{50} = 554.6 \pm 0.001 \mu\text{g.mL}^{-1}$) has significant antioxidant activity compared to ascorbic acid tested. As for the antibacterial activity, the extract from the leaves of *Zizyphus. Lotus* showed moderate inhibition on the bacterial growth of the two strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* tested (reference strains). The study of the antimicrobial power of bacterial isolates from volunteer hands showed that only unidentified *Staphylococcus aureus* bacterial isolates exhibit moderate antibacterial activity.

Keywords: *Zizyphus lotus*, extracts, isolates, *Staphylococcus aureus*, antioxidant activity, antibacterial activity

ملخص

اللوتس **Zizyphus** هو نبات من عائلة **Rhamnaceae** البرية. انه جوهر طبي يستخدمه السكان الجزائريون بشكل متكرر. تمت دراسة النوع **Z.Lolus L** على نطاق واسع في علم الادوية فهو يحتوي على الفيتامين **A** و **E**. الهدف من عملنا هو المساهمة في معرفة أنواع هذه النبتة من خلال تقييم أنشطتها البيولوجية , و تحديد فعاليتها كمضاد للبكتيريا. أظهرت الدراسة التي أجريت في المختبر على النشاط المضاد للاكسدة لمستخلص أوراق نبات اللوتس **Zizyphus** ان المستخلص الايثانولي الذي اعطى قيمة $IC_{50} = 52.5 \pm 0.001$ ميكروغرام / مل⁻¹ له فعالية كبيرة كمضاد للاكسدة مقارنة بحمض الاسكوربيك الذي تم اختباره. اما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص من الأوراق نبات **Zizyphus** أظهرت تشبيها معتدلا للنمو البكتيري لسلالتين مختلفتين **Staphylococcus aureus** و **Escherichia coli** المختبرة (السلالات المرجعية). أظهرت دراسة قوة المضادة للميكروبات للعزلات البكتيرية الماخوذة من ايدي المتطوعين ان العزلات البكتيرية **staphylococcus** هي الوحيدة التي تظهر نشاطا مضادا للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية : zizyphus lotus , مستخلصات, نشاط مضاد للاكسدة, نشاط مضاد للجراثيم, staphylococcus aureus,

Liste des Abréviation

PMA : plantes Médicinales at Aromatique

OMS : l'organisation mondiale de la santé

Fig. : figure

G : gramme

mg : milligramme

ml : millilitre

l : litre

Ul : microlitre

Min : minutes

Z. lotus : zizyphus lot (éditions, 2013)us

DPPH : Le 2,2-diphényle 1-picrylhydrazyle

IC₅₀ : concentration inhibitrice semi-maximale

GN : gélose nutritive

TSE :Tryptone Sel Eau.

AQ : extrait aqueux

ET : extrait éthanolique

MO ; microorganisme

DMSO : diméthylsulfoxyde

H₂O_D : eau distillé

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

Listes des figures

| <u>Les figures</u> | <u>Page</u> |
|--|-------------|
| Figure01: Plante de <i>Zizyphus lotus</i> (Vannette..., 2018) | 2 |
| Figure02: Feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> (Vanette, 2018) | 3 |
| Figure03: Fleur de <i>Zizyphus lotus</i> (Ivorra, 2015) | 3 |
| Figure04: Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde (Dupont et Guignard., 2015). | 8 |
| Figure 5: Aire de répartition de <i>Zizyphus lotus</i> en Algérie (Santa, 1962) | 9 |
| Figure 6: Classification des composés phénoliques (LABBANI, 2021.2022) | 14 |
| Figure 7: Les feuilles de <i>Zizyphus lotus</i> avant et après broyage | 19 |
| Figure 8: Agitateur (université saaddahleb, 2022) | 20 |
| Figure 09: Appareil d'évaporation des extraits (université saaddahleb, 2022) | 22 |
| Figure 10: Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) (M, 2012) | 25 |
| Figure 11: Le dosage des concentrations | 26 |
| Figure 12: Le protocole d'évaluation du pouvoir anti-radicalaire | 26 |
| Figure 13: Prélèvement d'un volontaire (V7) | 28 |
| Figure 14: Incubation des milieux de culture encemencée | 29 |
| Figure 15: Emulsification de la crème | 33 |
| Figure 16: Effet antibactérien de l'extrait de feuilles de <i>Z.Lotus</i> de chéfa sur <i>E. coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> | 33 |
| Figure 17: Structure de la paroi bactérienne | |
| Figure 18: Boite de gélose V1 avant et après lavage | 35 |
| Figure 19: Lacourbe d'étalonnage de l'antioxydant de référence (acide ascorbique) | 35 |
| Figure 20: Lacourbe d'étalonnage des échantillons | 37 |

Liste des tableaux

| | <u>Tableaux</u> | <u>page</u> |
|--------------------|---|--------------------|
| Tableau 01: | Classification botanique (Santa, 1962) | 08 |
| Tableau 02: | Composition en métabolites secondaires des différents organes du Zizyphus lotus | 11 |
| Tableau 03: | Propriétés médicinales de Zizyphus lotus | 17 |
| Tableau 04: | Souches microbiennes de références | 19 |
| Tableau 05: | Le rendement d'extraction | 22 |
| Tableau 06: | Résultats d'incubation des échantillons dans le milieu Chapman | 37 |
| Tableau 07: | Résultat d'incubation des échantillons dans le milieu nutritive | 38 |
| Tableau 08: | Pourcentage d'inhibition | 39 |
| Tableau09: | Calcul de l'indice d'AAI de Zizyphus lotus et de la vitamine C | 41 |

| Table de matière | Page |
|--|-------------|
| Liste des abréviations | / |
| Liste des tableaux | / |
| Introduction | 01 |
| Chapitre I-Généralités sur le <i>Zizyphus lotus</i> | 02 |
| 1-Généralités | 02 |
| 1.1-Historique et origine | 02 |
| 1.2-Description botanique | 02 |
| 1.3- Cycle de développement de <i>Zizyphus lotus</i> | 06 |
| 1.3.1- Cycle végétatif | 06 |
| 1.3.2 Cycle génératif | 06 |
| 1.4-Position systématique | 07 |
| 1.5-Classification botanique | 8 |
| 1.6-Répartition géographique | 8 |
| 1.7. Métabolites secondaires de <i>Zizyphus lotus</i> | |
| 1.8 Ravageurs et maladies de <i>Zizyphus lotus</i> | |
| 1.9 Les propriétés médicinales de <i>Zizyphus lotus</i> | |
| 1.10 Importance économique et environnementale de <i>Zizyphus lotus</i> | |
| 2 Substances bioactives | |
| 2.1 Composé phénoliques | 11 |
| 2.1.1 Les polyphénols | 11 |
| 2.1.2 Les flavonoïdes | 12 |
| 2.2 Techniques d'extraction des composés phénoliques | 15 |
| 2.2 Techniques d'extraction des composés phénoliques | 15 |
| 2.2.1 Macération | 15 |
| 2.2.2 Extraction à chaud en continu (soxhlet) | 15 |
| 2.2.3 Extraction par hydrolyse acide | 15 |
| 2.2.4 Extraction au CO₂ supercritique | 16 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.5 Extractions assiste par micro-ondes | 16 |
| Chapitre II-Matériels et méthodes | |
| 1 Matériels | 18 |
| 1.1 Matériels biologique | 18 |
| 1.1.1 Matériel végétal | 18 |
| 1.1.2 Souches microbiennes | 18 |
| 1.2 materiels non biologique | 19 |
| 2 Méthodologies | 19 |
| 2.1 Préparation de l'extrait | 19 |
| 2.1.1. Préparation d'extrait aqueux | 19 |
| 2.1.2. Préparation d'extrait éthanolique | 20 |
| 2.2 Tests biologiques de zizyphus lotus | 20 |
| 2.2.1. Évaluation de l'activité antibactérienne de la plante | 20 |
| 2.2.1.1 préparations de la souche bactérienne | 21 |
| 2.2.1.2 préparations de la suspension bactérienne | 21 |
| 2.2.1.3 préparations de milieu de culture | 21 |
| 2.2.1.4 Ensemencement | 21 |
| 2.2.1.5 lecture des antibiogrammes | 21 |
| 2.2.2 Evaluation de l'activité antioxydant de la plante | 22 |
| 2.2.2.1 Test de DPPH | 22 |
| 2.2.2.2 Protocol expérimental | 23 |
| 2.43 La formulation | 24 |
| 2.3.1 Formulation de savon | 24 |
| 2.3.1.1 tests d'efficacité de savon | 24 |
| 2.3.1.2 étude macroscopique sur boite de pétri | 26 |
| 2.3.1.3 Etude microscopique des bactéries | 26 |
| 2.3.2 Formulation de crème | 28 |
| 2.3.2.1 formulations de crème à 50% | 28 |
| 2.3.2.2 formulations de crème à 25% | 29 |
| Chapitre III-Résultats et Discussions | |
| 1. Rendement d'extraction | 31 |
| 2. Activité antibactérienne des feuilles de zizyphus lotus L : | 31 |
| 3. L'efficacité du savon | 33 |
| 4. Evaluation de l'activité anti oxydante | 35 |

INTRODUCTION

Introduction

Introduction

Les plantes ont été utilisées par l'homme depuis très longtemps pour se nourrir, se loger, se vêtir et se soigner.

Dans le règne végétal, nous trouvons les plantes médicinales et aromatiques qui jouent un rôle important dans le domaine : agroalimentaire et pharmaceutique ; ils sont une source de remèdes traditionnels grâce à leur contenance en molécules bioactives : alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, quinones et terpènes (Lafon et al., 1988).

La situation biogéographique, de l'Algérie entre la méditerranée et l'Afrique sub-saharienne explique sa diversité végétale.

Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent de très large éventail d'activités biologiques (Aberkane.M, 2006)

Les métabolites secondaires ont plusieurs intérêts dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Ils sont aussi utilisés en thérapie. Ils se trouvent dans toutes les parties de la plante mais leur distribution s'établit en fonction du (des) rôle (s) qu'ils jouent dans la plante (Bruneton.J, 1999)

Actuellement, les différents composés des extraits, des huiles essentielles sont très utilisés dans le traitement de certaines maladies et dans la préservation des aliments contre l'oxydation, comme alternatives aux produits chimiques de synthèse.

Le genre *Zizyphus* fait partie de la famille des Rhamnaceae, il comporte plusieurs espèces *Z. lotus*. En Algérie, ce genre est représenté par 3 espèces : *Z. jujuba*, *Z. mauritiana*, et *Z. lotus*. Les espèces de ce genre sont très utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter les infections microbiennes, virales, les mycoses et les affections respiratoires.

Vu l'importance de l'utilisation des espèces du genre *Zizyphus lotus* en médecine traditionnelle et dans le cadre de chercher à valoriser les plantes aromatiques et médicinales de la région de Mitidja, nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'activité anti oxydante et anti bactérienne de *Zizyphus lotus* de la région de Mitidja.

CHAPITRE 1

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUES

1. Généralités:

1.1 historique et origine:

Découvert en 1767, le nom de *Ziziphus* dérive de l'appellation Berbère «*Zizoufou, Zuzaifo*». Cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique «*Zizfum ou Zizafun* », alors que les grecs utilisent le mot «*Ziziphon*». La classification des espèces est basée principalement sur des caractéristiques morphologiques et leur mode d'utilisation. Ce genre regroupe plusieurs espèces environ 170, telles que *Z.spina-christ (L.)*, *Z.vulgaris(Mill.)*, *Z.lotus (L.)*, *Z. mauritiana(Lam.)*. Les deux espèces qui produisent des fruits comestibles sont *Ziziphismauritiana* et *Ziziphusjujuba* et ce dernier est l'espèce la plus populaire. (Amzal, 2016) Les espèces fruitières de *Ziziphusse* trouvent dans plus de 30 pays, dans les zones arides et semi-arides voire même désertiques de presque tous les continents grâce à leurs capacités de résistance à la sécheresse et à leurs mécanismes physiologiques et morphologiques d'adaptation. (Laamouri A., 2008)

1.2 Description botanique:

Le *Zizyphus lotus* est une plante dicotylédone, issue de la famille Rhamnacée (Rsaissi, 2013). Appelée localement «*Sedra* » (Borgi, 2009). C'est un arbuste très ramifié épineux à grandes souches souterraines de 1,3 m à 2,2 m.



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

a) Tiges

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

b) Feuilles

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



Figure 2: Feuilles de *Zizyphus lotus* (Vanette, 2018)

c) Fleurs

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

Elles sont très visibles de couleurs jaunes pales (Figure 3).



Figure 3: Fleur de *Zizyphus lotus* (Ivorra, 2015)

1.3. Cycle de développement de *Zizyphus lotus*

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

1.3.1 Cycle végétatif:

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

a/ Système racinaire

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

Une phase hivernale : elle s'étale jusqu' à mi-mars, durant cette période la croissance est faible à cause de la diminution de la circulation de la sève brute.

Une phase printanière : elle s'étale jusqu' à fin Juin et est caractérisée par une forte croissance racinaire.

Une phase estivale : entre Juillet et Août, où il y a une baisse de croissance des racines.

B/ Système aérien

- **Porte**

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

Première période: se caractérise par un développement lent qui commence par la germination jusqu' à la 12ème semaine.

Deuxième période: se caractérise par un développement rapide, Il est de 15 semaines variant de 5 cm à 11, 5 cm par semaine.

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

- **Rameaux**

Janvier-Février : la dormance des rameaux est levée par une période suffisamment longue à basse température (hiver).

Mars-Avril : les dernières dormances éventuelles, dues à la photopériode sont elles aussi levées.

Avril-Mai : le seuil thermique d'activation biologique est dépassé, c'est le débourrement (le début de la période de végétation).

Juillet-Août : les seuils photopériodiques sont atteints successivement (Nanson, 2004)

1.3.2 Le cycle génératif

❖ L'induction florale

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

❖ La Floraison – fructification

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

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

1.4 position systématique

a) Nom vernaculaires

Nom scientifique : *Zizyphus lotus*

Nom arabe : Zizouf (زيزفون)/Sedra (السدر) /Sidr (السدر) /Sidr barri (السدر البري)

Nom Kabylie : Azaggar

Nom anglais : African jujube, lotus tree, lotus jujube.

Nom français : jujubier sauvage, jujubier de berbère, jujubier de Lotophage.

Nom allemand : wilde jujube.

b) synonymes botaniques

- ❖ *Zizyphus lotus Lam*
- ❖ *Zizyphus lotus Aitch*
- ❖ *Zizyphus Rotundifolia*
- ❖ *Zizyphus lotus Blanco*
- ❖ *Zizyphus Lotoidea*
- ❖ *Rhamnus lotus L*

1.5 Classification botanique :

Tableau 01 :Classification botanique (Santa, 1962)

| | |
|---------------------------|-------------------|
| Règne | Végétal |
| Sous règne | Tracheobionta |
| Division | Magnoliophyta |
| Embranchement | Spermatophytes. |
| Sous embranchement | Angiospermes. |
| Classe | Dicotylédone. |
| Sous classe | Rosidae |
| Ordre | Celastrales. |
| Famille | Rhamnaceae. |
| Sous famille | Paliureae |
| Genre | Zizyphus. |
| Espèce | Zizyphus lotus L. |

1.6 Répartition géographique :

A) Dans le monde

Le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'une entre elles, *Zizyphus lotus*, est spontanée dans le sud d'Espagne et du Portugal, en Sicile, en Grèce (J B. , 2000). On le rencontre aussi dans les steppes désertiques d'Afrique du Nord et Asie Mineure (G P. R., 1960)

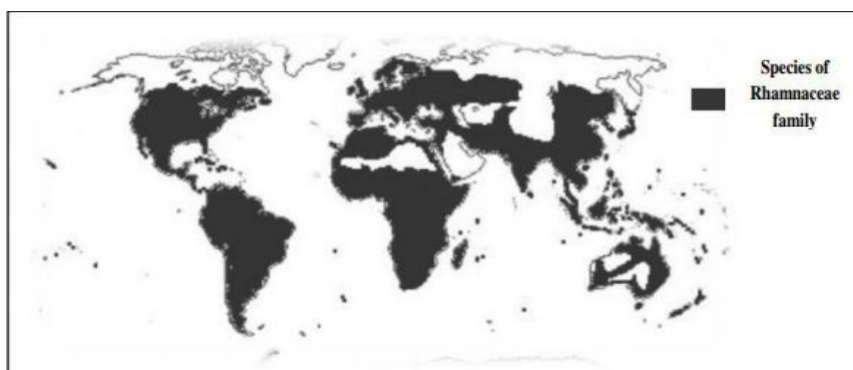
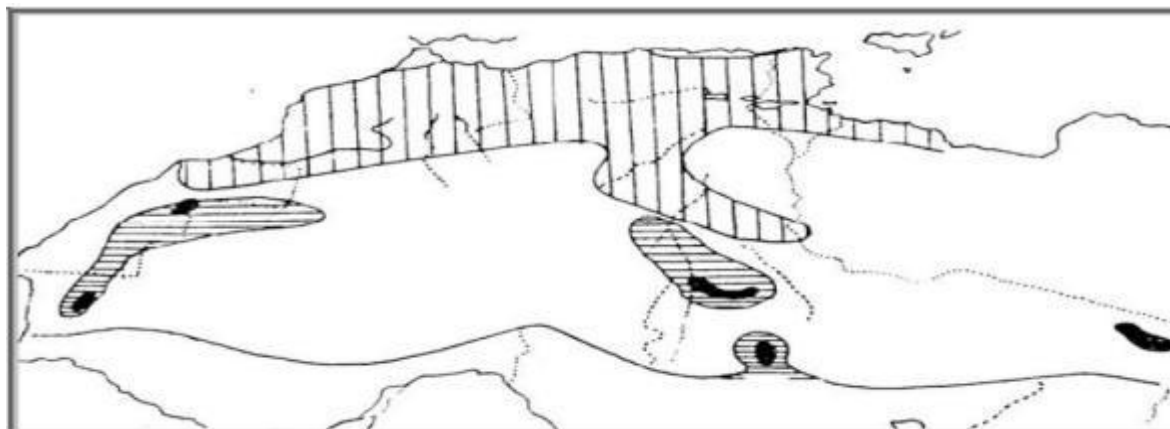


Figure 04 : Aire de répartition de la famille des rhamnacées dans le monde (Dupont et Guignard., 2015).

B) En Algérie

Zizyphus lotus est répandu dans toute l'Algérie sauf dans le Tell Algéro-constantinois (Quezel P., 1962), est très répandue dans les régions arides d'Algérie du Sud, Ain Ouessara et Maessad (willaya de Djelfa) à climat aride et Taghit wilaya de Bechar au climat Saharien (Mounni., 2008).



 Aire géographique de *zizyphus lotus*

Figure 05: Aire de répartition de *Zizyphus lotus* en Algérie (Santa, 1962)

1.7. Métabolites secondaires du *Zizyphus lotus*

Zizyphus lotus est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides (Catoire et al., 1999 ; Borgi et Chouchane, 2006).

Les principaux métabolites secondaires identifiés dans les différents organes de *Zizyphus lotus* sont groupés dans le tableau suivant (tableau 3).

Tableau 3 : Composition en métabolites secondaires des différents organes du *Zizyphus lotus*

| Organe végétale | Composants majeur | Contenu mg /100g | Références |
|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| Fruits | Acides phénoliques | 297–4078.2 | (Hammi, 2015), (Ghazghazi, 2014) |
| | Flavonoïdes | 122 | |
| | Tannins | 33 | |
| Feuille | Phénols totaux | 664 | (Borgi, 2009) (Ghazghazi, 2014) |
| | Flavonoïdes | 130-199 | |
| | Tannins | 39 | |
| | Saponines | 340 | |
| | Jujuboside B | 3 | |
| Monosaccharides | 8720 | | |
| Graine | Polyphénols | 14,68 | (Chouaibi, 2012), (Abdeddaim, 2014) |
| | Carbohydrate | 4087 | |
| | Pectines | 1350 | |
| | Fibres totaux | 16570 | |
| Peulpe | Phénols totaux | 325 | (Abdeddaim, 2014), (Rsaissi, 2013) |
| | Flavonoïdes | 173 | |
| | Tannins | 922 | |
| | Fibres totaux | 4840 | |
| | Matière minérale | 3200 | |

1.8 Ravageurs et maladies de *Zizyphus lotus* :

L'arbuste de jujubier à une grande résistance contre les agressions biologiques sauf certain maladies et ravageurs surtout les variétés chinoises *Zizyphus satina*. Un Kermes, coccus conchaeformis, est lui aussi assez commun, il se traite aux insecticides (pyrèthre, roténone) (Catoire C, 1999)

1.9 Les propriétés médicinales de *Zizyphus lotus* :

Zizyphus lotus est une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle, Les principales propriétés citées dans la bibliographie sont indiquées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Propriétés médicinales de *Zizyphus lotus*

| Organe | Effets | Réafférence |
|----------------|---|--|
| Feuille | -Soin des furoncles et les abcès (cataplasme). -Effets analgésiques et une importante activité antiulcérogénique attribués à leur contenu en principes actifs et la présence de tanins et de flavonoïdes connus par leurs effets gastroprotecteurs. | Borgi et al 2007(a) Borgi et al 2008. |
| Racine | -Traitement du diabète dans la médecine traditionnelle. -Le jus qui serait efficace dans les traitements de leucomes. -Soins des affections du tube digestif et du foie -Activité anti-inflammatoire significative par les flavonoïdes et les saponines. | Ghedira et al 1995 Baba Aissa 1999. Borgi et Chouchane 2006 |
| Fruits | -Associées aux fruits du jonc, à la lavande, au styles de mais, au chiendent et aux fleurs de figuier de Barbarie, traite les cystites et contre les calculs rénaux. -Traitement des irritations broncho-pulmonaires. | Bellakhdar 1997 Baba Aissa 1999 Borgi et al 2007 |

1.10. Importance économique et environnementale de *Zizyphus lotus*

Sur les terres agricoles, les touffes de jujubier sont généralement utilisées pour la confection des enclos autour des habitats, des parcelles cultivées et parcs à bétail et comme source de bois de chauffage.

2. substances bioactives

2.1. Composés phénoliques de jujubier :

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

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

2.1.1. Les polyphénols

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

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques (Charpentie, 2006).

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives (G K. A., 1999), ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires, antimicrobiens, (Bahorum, 1997), (Cetkovic G., 2008).

Les polyphénols sont des molécules très diversifiées, constituées d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes suivant la complexité du squelette de base (noyau C6), le degré de modification de ce squelette (oxydation, hydroxylation...) et enfin suivant les molécules auxquelles ils sont associés (glucides, lipides, protéines, autres métabolites).

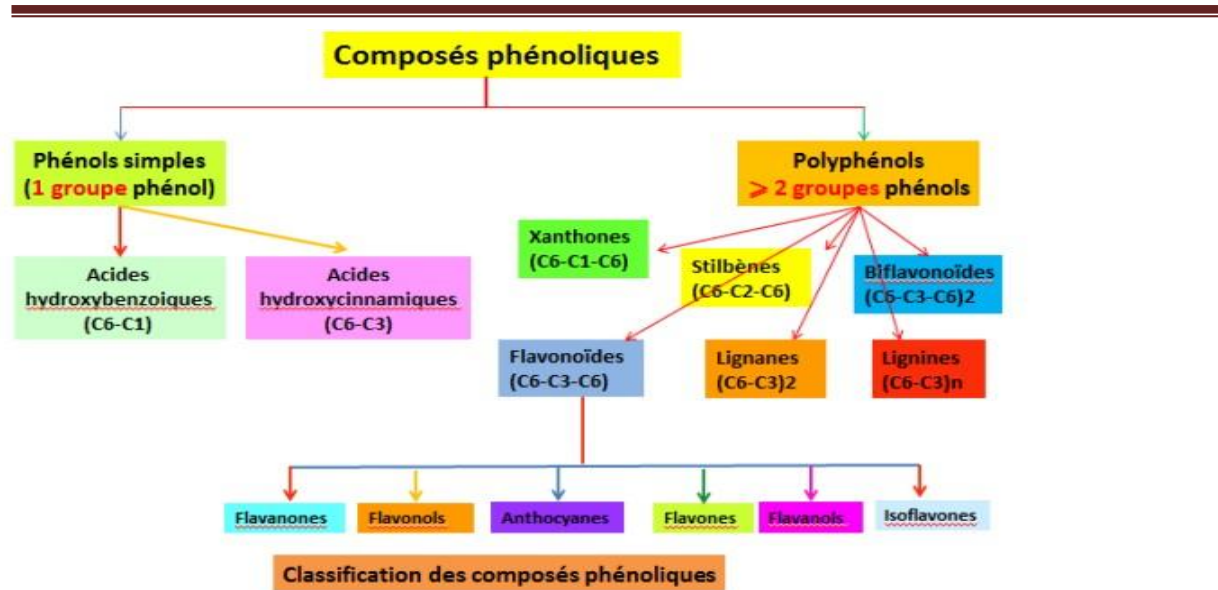


Figure 06: classification des composés phénoliques (LABBANI, 2021.2022)

2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (J B. , 1999).

Les flavonoïdes sont amplement répandus dans le règne végétal (graines, fleurs, fruits, feuilles) (Dacosta, 2003).

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 4000 composés différents identifiés dans le règne végétal. Les flavonoïdes ont été mis en évidence en 1936, dans le zeste de citron, par Albert Szent-Györgyi, un Hongrois qui reçut le prix Nobel de Médecine en 1937 pour avoir isolé la vitamine C. Ces molécules possèdent toutes un squelette chimique commun (diphényle propanes constitués de deux noyaux aromatiques, liés par trois atomes carboniques).

2.1.2.1. Propriétés des flavonoïdes :

- **Propriétés anti radicalaires**

Le terme antioxydant est un agent qui utilisé à l'origine pour désigner les substances chimiques qui empêchent ou ralentissent l'oxydation en neutralisation des radicaux libres. Au début du XXe siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels afin de réduire par exemple la corrosion des métaux et la polymérisation des carburants dans les moteurs à explosion³⁵. Il a un rôle bénéfique pour la santé grâce à la protection contre les vieillissements, réduisent les risques de cancers et de maladies cardio-vasculaires. (Blot, 1993)

La propriété antioxydant permet aux polyphénols de piéger les radicaux libres contre les agressions environnementales, L'activité du piégeage des radicaux libres est l'un des mécanismes importants de l'activité antioxydant, pour les flavonoïdes, ce mécanisme est lié à leur structure et de l'arrangement des groupements hydroxyles (Sokol-Letowska A et al, 2007).

- **Propriétés anticancéreuses**

Certains flavonoides possèdent une activité antitumorale et anticancérogénique significative. Par blocage de la production de la tumeur de la peau, la quercétine peut être considérée effectif dans la prévention du cancer de la peau (Formica J-V et Regelson W, 1995).

- **Propriétés antiallergiques**

La quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme.

- **Propriétés antibactériennes**

Les flavonoïdes possèdent des propriétés antimicrobiennes (Petit P et al, 2007). Ils sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Mucsi et Pragai en 1985 ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus d'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPC dans les cellules infectées. Certains travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), aussi les flavonoïdes se sont avérés de bons inhibiteurs de transcriptase reverse.

Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase. D'autre part, une étude a montré l'effet bactéricide de différentes flavanones sur plusieurs bactéries comme :

Escherichia coli :

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, (Kaper et al., 2004), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm , E. coli représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Percival, 2004).

Staphylococcus aureus:

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 μm , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulées, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. Staphylococcus aureus représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë, intoxication alimentaire (S, 2006).

- **Propriétés anti inflammatoires**

Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes

- **Propriétés chélatrices des ions métalliques**

Grâce à leur structure chimique spécifique, les flavonoïdes peuvent facilement chélater les ions métalliques en créant des composés complexes inactifs.

2.2. Les techniques d'extraction des composés phénoliques :

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

2.2.1. La Macération :

L'extraction par macération est utilisée depuis longtemps pour extraire les tanins condensés et les polyphénols à partir des écorces d'arbres, ou à partir des fruits. Les solvants utilisés sont l'eau, l'acétone 70% ou le méthanol 80%. Elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d'autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est très peu sélective (K, 2009)

2.2.2. Extraction à chaud en continu (Soxhlet)

Un extracteur soxhlet est une pièce de verrerie utilisée pour extraire les molécules aromatiques de la plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites, le ballon s'enrichit progressivement en composés soluble. La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extrait.

2.2.3. Extraction par hydrolyse acide

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

Une fraction d'aglycones et d'acides phénols par l'extraction préliminaire à l'étherdiéthylique.

Une fraction de C-glycosides et d'anthocyanes récupérée par l'extraction au nbutano

2.2.4. Extraction au CO₂ supercritique

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

L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant

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

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

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

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

CHAPITRE 2

MATERIELS

ET METHODES

Le but de notre travail est de formuler une crème et un savon antimicrobienne naturel a base d`extrait des feuilles de *Z.lotus* de la région de chéfa

L`objectif de notre travail, la formulation des produits naturels a partir de différentes extraits de feuilles de *Z.lotus*, et l`évaluation de leur effets antimicrobienne in vivo.

1. Matériels

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Zizyphus lotus L* sont récoltées la mâtinés, de la wilaya de Blida, dans la région de Chéfa aux cours de mois de mars. Les feuilles de la plante sont recoltes, rincées et séchés à l`air libre, à labri de la lumière et de l`humidité. Après le séchage, ils sont broyés à l`aide d`un mixeur jusqu`à l`obtention d`une poudre.



Figure 07: les feuilles de *Zizyphus lotus* avant et après broyage

1.1.2. Les souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées ont été fournis par le laboratoire Soidal de Médéa. Les souches testes sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 04: Souches microbiennes de références

| | | | |
|-----------------|---------------|------------------------------|----------|
| Microorganismes | Gram positifs | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC2592 |
| | Gram négatifs | <i>Escherichia coli</i> | ATCC8139 |

1.2. Matériel non biologique

L'ensemble des verreries et des produits utilisés lors de cette étude sont motionnés dans le tableau voir Annex.

2. Méthodologie

2.1. Préparation d'extraits

2.1.1. Préparation d'extrait aqueux par macération

Une macération aqueuse a été effectuée sur 10 g de poudre des feuilles du Zizyphus lotus avec 200 ml de H₂O_D

- **Agitation**

Après avoir préparé l'Arlen Mayer, il est placé dans une chambre sur un appareil d'agitation pendant trois jours.



Figure 08: Agitateur (université saaddahleb, 2022)

- **La filtration**

Après 72 heures d'agitation, la filtration faite à l'aide d'un entonnoir et un papier wattman n°2. Récupère extrait obtenu dans une fiole sous obscurité, puis concentrée par lyophilisation.

- **Lyophilisateur**

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

2.1.2. Préparation d'extrait éthanolique

Une prise d'essais de 10 g de poudre des feuilles de *Zizyphus lotus* a été mise à macérer dans 200 ml d'éthanol 96%. Après filtration, l'extrait à été évaporé à sec sous pression réduite à 45°C au Rotavapor (Bougandoura et Bendimerad, 2012).



Figure09: appareil d'évaporation des extraits (université saaddahleb, 2022)

2.2. Tests biologique de *Zizyphus lotus L.*

2.2.1. Evaluation des activités antibactériennes de la plante

La méthode utilisée pour l'évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne, c'est la méthode de diffusion sur disque en milieu gélose.

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

2.2.1.1. Préparation des souches bactériennes

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude sont des souches références : Staphylococcus aureus ATCC2592 sont des bactéries Gram positive et Escherichia coli qui ATCC8139 est des bactéries a Gram négatif.

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

2.2.1.2. Préparation de la suspension bactérienne

Prélever à l'aide d'une anse stérile des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées pour les homogénéiser dans 5 ml de Tryptophane sel eau (TSE). .

2.2.1.3. Préparation des milieux de cultures

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

2.2.1.4. Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boites Pétri,ensemencer toute la surface du milieu en stries serrées. Les disques imprégnés d'extrait sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. L'imprégnation des disques a été faite, au préalable, a l'aide de micropipette. Finalement, les boites de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

2.2.1.5. Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques.

D'après Kumar, M et al (231), les résultats sont classés suivant la sensibilité des souches vis-à-vis des substances testés comme suit :

Diamètre < 10mm : souche non sensible ou résistante

Diamètre de 1 à 15 mm : souche moyennement sensible

Diamètre de 15 à 19 mm : souche sensible

Diamètre > 20 mm : souche extrêmement sensible

2.2.2. Evaluation des activités antioxydante de la plante

L'activité antioxydante des composés phénoliques provient de leur capacité à donner un électron ou un hydrogène, et de délocaliser un électron impair à l'intérieur de leur structure aromatique. Ils protègent ainsi les molécules biologiques contre l'oxydation.

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro des différents extraits du *Zizyphus lotus* est réalisée par la méthode du piégeage d'un radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

2.2.2.1. Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Principe

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Z. lotus*, nous avons éliè la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) comme un radical libre relativement stable (Sharma et al, 2009), selon le protocole décrit par. Ce test est basé sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH·). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

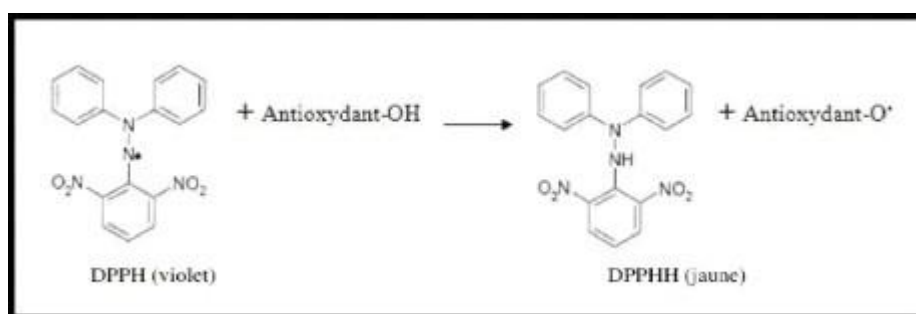


Figure10: Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) (M, 2012)

La réduction de DPPH (2.2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) en DPPH-H (2.2 Diphenyl-1-picrylhydrazine) induit une perte de sa couleur violette qui peut être suivie à 517 nm ce qui reflète la présence des substances anti-radicalaires dans le milieu; ainsi quand la perte de la couleur est rapide, le donneur de l'hydrogène est considéré comme un fort antioxydant (popovici C, 2009).

2.2.2.2. Protocole expérimental :

Pour réaliser l'analyse 2,9 ml de la solution éthanolique de DPPH (0.025g/l) est ajouté a 100 µl de la solution de chaque extrait à différents concentration (25, 50, 100, 200et 250 µg /ml). Le mélange est vigoureusement agité puis les tubes sont incubé a température ambiante et a l'obscurité pendant 30 min. la longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminer. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm.



Figure11: dosage des concentrations

Les échantillons, les antioxydants de référence (acide ascorbique) et le témoin sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

Le protocole d'évaluation du pouvoir anti-radicalaire est illustré par la figure suivante :

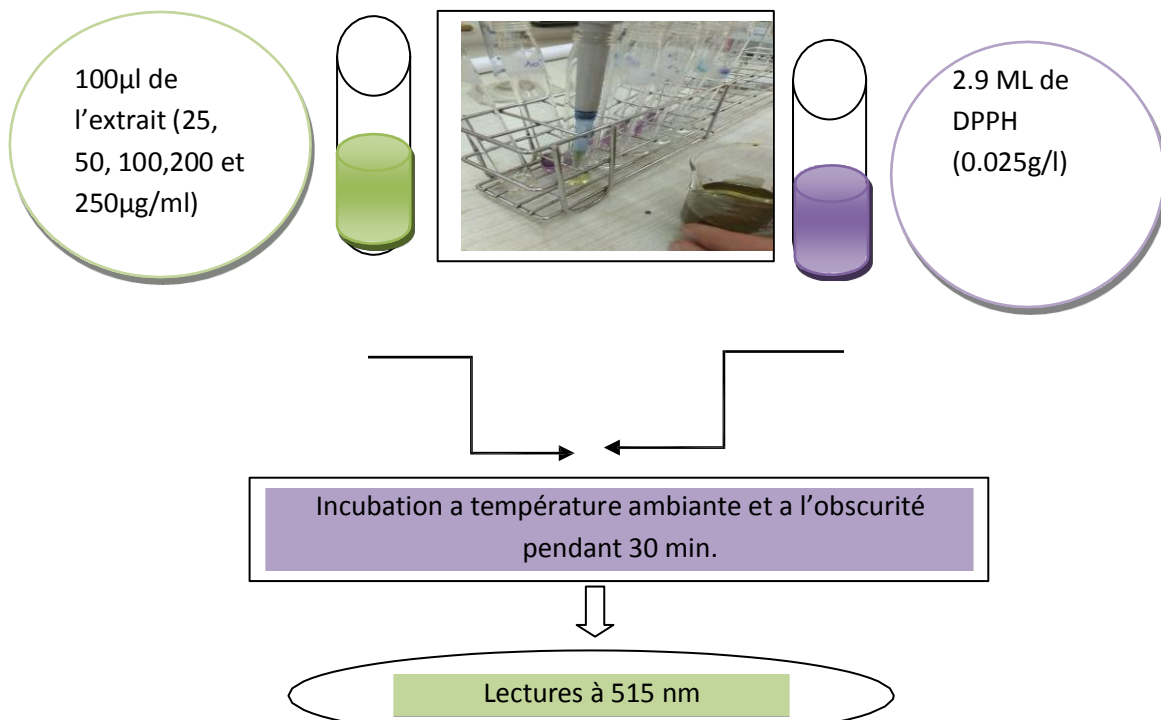


Figure 12: Le protocole d'évaluation du pouvoir anti-radicalaire

2.3. La formulation

2.3.1. Formulation de savon

Dissoudre une quantité de 10 g du soude dans un extrait aqueux de Z.lotus sur un bain marri. Peser 100g d'huile de coco et laisse-la sur une plaque chauffante jusqu'à ce qu'elle fonde. Ensuite, repeser 150g d'huile d'olive et mélange les deux huiles. Laisse-les refroidir jusqu'à la température 37°C. Verser la solution de soude dans la solution huileuse et mélangé à l'aide d'un mixeur jusqu'à ce que la solution soit prête. Puis mettre le dans des moules.

2.3.1.1. Tests d'efficacité du savon

Cette évaluation est basée sur le degré d'efficacité du savon naturel préparé à partir d'une extrait aqueux de zizyphus lotus L pour éliminer les bactéries présentes dans les mains de certains volontaires ayant testé ce produit naturel.

L'efficacité du savon naturel dans l'élimination des bactéries et des germes a été évaluée en comparaison avec un témoin industriel (désinfectant).

- **Préparation des échantillons :**

Devant le Bec Bunsen et sur une table propre et stérile, versez le milieu TSE dans les écouvillons et écrivez les informations nécessaires sur chacune.

Le prélèvement bactériologique ont été effectuée sur les mains des volontaires avant et après l'utilisation de savon et le septième (V7) prélevé un échantillon avant et après l'utilisation de désinfectant industriel. Puis, placé à l'intérieur des écouvillons. Agiter le milieu et laisser agir quelques minutes.



Figure 13: prelevement d'un volontaire (V7)

- **Préparation des milieux de culture**

La gélose de Chapman et la gélose nutritive ont été préalablement préparées et distribuées dans des boîtes de Pétri stériles. Séchez-les 30 minutes à température ambiante avant utilisation.

- **Ensemencement**

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

- **Incubation**

L'incubation se réalise dans une étuve à une température de (30°C.a. 37°C)



Figure14: incubation des milieux de culture ensemencée

L'évaluation des échantillons se fait après 24 a 48 heures d'incubation.

2.3.1.2 Etude macroscopique sur boîte de pétri

- 1) Présence/absences des colonies bactériennes
- 2) Observation: la forme, la couleur l'opacité des colonies et mesuré le diamètre des colonies.

2.3.1.3 Etude microscopique des bactéries**a. La coloration de Gram**

Il est essentiel de connaître ce qui différencie une bactérie à Gram (+) d'une bactérie à Gram (-), pour qui s'intéresse un peu à la bactériologie. En effet la technique de coloration de Gram, découverte à la fin du XIXe siècle, est toujours répandue aujourd'hui. Ce procédé de classification des bactéries découvert en 1884 par le pharmacien, médecin et bactériologiste danois, Hans Gram. Ainsi, la distinction d'une bactérie à Gram positif ou négatif donne de précieux indices aux scientifiques et médecins sur la nature du micro-organisme et sa manière de réagir à certains produits.

- **Bactéries de gram positif**

Les bactéries à Gram positif apparaissent violettes au microscope. La paroi de ces micro-organismes est particulièrement épaisse et uniforme. Du fait de cette structure particulière, l'alcool ne peut traverser la paroi bactérienne lors de la décoloration. Ainsi, la recoloration par la fuchsine ne fonctionne pas sur les bactéries à Gram positif, qui conservent une coloration violette.

- **Bactéries de gram négatif**

Les bactéries à Gram (-) pour leur part, présentent une paroi plus fine que leurs homologues à Gram (+). De fait, celle-ci est perméable à l'alcool, qui la décolore lors de la mise en pratique de la coloration de Gram. C'est pour cela que les bactéries à Gram négatif ne sont pas violettes

Technique de coloration

Prenez les trois boîtes de Pétri de gélose nutritive des trois échantillons avant l'utilisation de savon identifier la nature et le type de bactéries présentes.

- **Faire un frottis**

:

Déposer une goutte d'eau distillée stérile sur la lame. Prélever des bactéries à l'aide d'une pipette Pasteur, ensuite Faire un frottis bactérien.

- **Coloration**

Déposer quelques gouttes de **violet de gentiane** (cristal violet) sur le frottis et Laisser agir pendant une minute puis Rince avec l'eau du robinet. Déposer quelques gouttes de **Lugol** sur le frottis et Laisser agir 1 minute puis Rincé avec l'eau du robinet. Placé le frottis dans un bain d'alcool à 70°, pendant 30 secondes puis Rincer à l'H₂O. Colorer maintenant le frottis avec la **fuchsine** (pendant 1 minute) avec Séchage, ensuite Observer le frottis au microscope (G x100 à l'observation),

- **Identification des bactéries**

Observation au microscope photonique : Nous avons observé deux genres de bactéries. Bactéries à gram positives (G^+) et des bactéries à gram négatives (G^-).

Tests d'identification : Ex : ApiE tests

L'ApiE tests nous a permis d'identifier *Escherichia coli*

Tests catalase :

Sur une lame propre, nous avons mis quelques bactéries (G^-) ou, on a ajouté quelques gouttes de l'eau oxygénée (H_2O_2), après quelques secondes, nous avons observés une effervescence.

Observation : Catalase positive.

Pour les bactéries à gram positives (G^+) : on a ajouté le sérum de lapin à notre suspension bactérienne.

Observation : Flocculation/Coagulation

Staphylococcus aureus : Bactérie à Gram positif, Coagulation⁺

2.3.2. Formulation des crèmes

2.3.2.1. Formulation de crème à 50%

La crème préparée contient 50% d'extrait ethanolique de jujubier obtenue après concentration par Rotavapeur c'est-à-dire on va prendre 1g de cette extrait.

Le processus de préparation de la crème passe par deux phases interdépendantes (huileuse et aqueuse). La masse de la crème à préparer est d'environ 100g.

- **Préparation de la phase huileuse**

La masse de cette phase est 40g.

Prépare tous les matériels et les produits nécessaires pour la préparation de la crème. Allumez la balance et mettre un morceau de papier au-dessus, ensuite cliquer sur tare. Peser 5g d'alcool stéarylique, 5g d'alcool cétylique, 2g d'acide stéarique et mettez-les dans le bucher, ajoutez aussi 38g d'huile de coco et 1g d'extrait de jujubier dans le même bucher et le Mettre sur une plaque chauffante à 94°C jusqu'il va être homogène.

- **Préparation de la phase aqueuse**

La masse de cette phase est 60g.

Dans un autre bucher peser 1.5g de gomme guar, 2g d'imulgan (agent muant), 2g de glycérol.

Ensuite, on ajoute 54.5ml d'eau distillé. Ajouter un barreau magnétique dans la solution, puis agiter a l'aide un agitateur.

- **Emulsification**

On commence par l'agitation au même temps on ajoute la phase huileuse dans la phase aqueuse. On augmenter l'agitation pour favoriser l'émulsion. Diminuer l'agitation jusqu'à formation d'une crème.



Figure15: Emulsification de la crème

2.3.2.2. Formulation de crème à 25%

La crème préparé cette fois contient 25% d'extrait brute de jujubier obtenue après concentration par Retavapeur c'est-à-dire on va prendre 0.5g de cette extrait.

La préparation de cette crème se fait dans les mêmes étapes mentionnées ci-dessus. En tenant compte de la quantité d'extrait ajoutée lors de la phase huileuse qui est estimée à 0,5 g.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET

DISCUSSIONS

1. Rendement d'extraction

Le rendement (R) de la plante en extraits secs est le rapport entre la masse de l'extrait sec (ME) et la masse de la poudre végétale (MV).

Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante:

$$R = (ME / MV) \times 100$$

| L'extrait | Éthanolique |
|-----------|-------------|
| Rendement | 20% |

Tableau 05: le rendement d'extraction

2. Activité antibactérienne des feuilles de *Zizyphus lotus* L:

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobien des extraits préparés des feuilles du *Zizyphus lotus* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides, Mueller-Hinton. L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait à tester vis-à-vis les bactéries Gram (+) : *Staphylococcus aureus*, et Gram (-) : *Escherichiacoli*. Les résultats obtenus sont apportés dans la figure (22).

Les résultats obtenus ont montré que le pouvoir antimicrobien dépend de type des souches microbiennes.

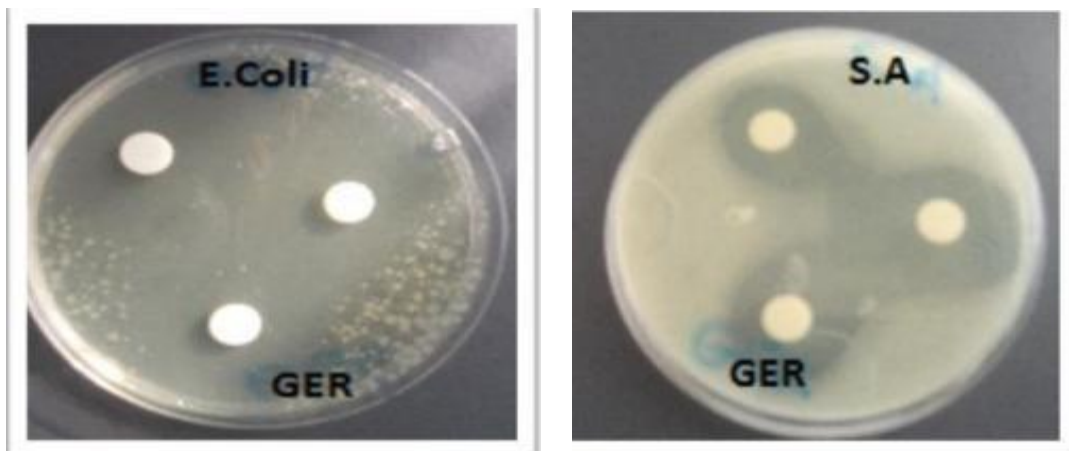


Figure 16: effet antibactérien de l'extrait de feuilles de *Z.Lotus* de chéfa sur *E. coli* et *Staphylococcus aureus*

Interprétation des figures

Les résultats obtenus montrent que l'extrait des feuilles de *Zizyphus lotus* L de la région de Chéfa a une activité d'inhibition significative contre la croissance bactérienne un degré différents, lié au type de souche microbienne.

D'après les résultats obtenus, notre extrait apparaît une grande zone d'inhibition entre (17-22 mm) sur les *Staphylococcus aureus* (Gram+) par rapport à *Escherichia coli* (Gram-).

Ces résultats montrent que l'extrait AQ a une grande activité anti bactérienne qui confirme sa richesse en composés actifs.

Il est apparu que le *Staphylococcus aureus* (gram positive) est la bactérie la plus susceptible par comparaison avec l'autre souche (gram négative); ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Ali-Shtayeh et al., 1998)

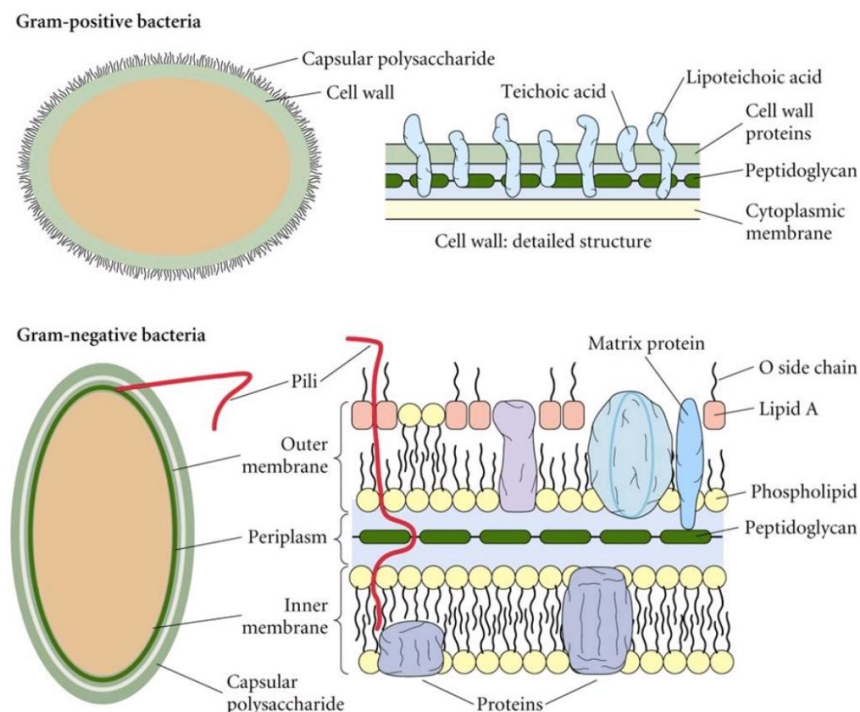


Figure 17: structure de la paroi bactérienne (Ali-Shtayeh et al. 1998)

Discussion

L'extrait des feuilles fait une grande zone d'inhibition avec *Staphylococcus aureus* (Gram+), ce qui confirme que l'extrait est plus actif avec les (Gram+) qui constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe donc l'inhibition de ce genre des bactéries est difficile.

Dans une recherche rédigée par Meriem Elaloui (2017), deux extraits ont été préparé par macération : éthanolique et aqueux à partir de 1g de poudre des feuilles de *Zizyphus lotus* récolté dans la région de Kairouan (Tunis) en été 2014. La mise en évidence de l'activité antimicrobienne des différents extraits est faite par la méthode de diffusion par puits dans des conditions d'asepsie strictes, sur le milieu BTSC à trois concentrations préparées pour chaque extrait : 5 mg/ml, 60 mg/ml, 100 mg/ml. Selon les résultats de la bactérie testée : *Escherichia coli*, on remarque une absence de l'activité inhibitrice à faible concentration 5 mg/ml de l'extrait éthanolique, sauf pour *Staphylococcus aureus* où il montre une faible activité inhibitrice.

Les différentes études sur les feuilles de *Z.lotus* démontrent que La sensibilité des micro-organismes aux différents extraits de cette plante est bien corrélée avec la méthode d'extraction et/ou le solvant utilisé.

L'extrait de *Z.lotus* montre une grande réduction significative de bactérie Gram négative ou Gram positive indépendamment des modes de l'extraction ou de la composition de l'extrait.

Plusieurs facteurs ont une influence sur le taux de croissance de différentes bactéries : La méthode d'extraction, la quantité utilisée de poudre, la concentration d'extraits et extrait utilisé.

3. L'efficacité du savon

Nous avons étudié in vivo le pouvoir antimicrobien de l'extrait aqueux préparé à partir des feuilles de *Zizyphus lotus* en testant sur des volontaires le degré d'efficacité d'un savon naturel préparé à partir de l'extrait aqueux de la plante.

L'efficacité du savon naturel dans l'élimination des bactéries et des germes a été évaluée en comparaison avec un témoin industriel (désinfectant).



Figure 18: boite de gélose V1 avant et après lavage

La figure (25) représente les boites de gélose des prélèvements de volontaires 1 avant et après lavage avec le savon naturel. Les colonies bactériennes sont visibles sur les deux boites de prélèvement avant et après lavage.

Les résultats des prélèvements sont très satisfaisants. Ils ont montré qu'après un lavage avec le savon les nombres des colonies bactériennes sont presque absents. Ces résultats permettent également de conclure que les feuilles de zizyphus lotus L présentes dans le savon semblent être efficaces avec une activité anti bactérienne remarquable.

Les résultats obtenus des différents prélèvements microbiologiques sont rapportés dans les tableaux (6) et (7).

Tableau 06: résultats d'incubation des échantillons dans le milieu Chapman

| Incubation | | V1 | V2 | V3 | V4 | V5 | V6 | V7 |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 24 heures | Avant | +++ | ++++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | Après | ---+ | ---+ | ---+ | ---+ | ---+ | - | --- |
| 48 heures | Avant | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | ++++ | +++++ |
| | | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | ++++ | +++++ |
| | Après | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |

+ : présence des MO - : absence des MO

Tableau 07: Résultats d'incubation des échantillons dans le milieu nutritif

| Incubation | | V1 | V2 | V3 |
|------------|-------|-------------|-------------|-------------|
| 24 heures | Avant | ++++ | ++++++ | ++++++ |
| | Après | ----+----- | -----+-- | -----+-- |
| 48 heures | Avant | +++++ | +++++ | +++++ |
| | Après | -----+----- | -----+----- | -----+----- |

+ : présence de MO

- : absence des MO

Ces tableaux montrent bien que le nombre de colonies bactérienne avant lavage des mains avec le savon et largement réduit après lavage et celui-ci pour chaque volontaire.

Ces résultats ont été comparés avec un témoin industriel V7 qui a donné des résultats d'une grande précision et nous a prouvé la grande efficacité du notre savon.

Les résultats des isolats microbiens des deux milieux montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *zizyphus lotus L* élimine des nombreux types des souches bactériennes à différents degrés.

L'identification des souches bactériennes par la coloration de gram et le test de catalase nous a donné des *Staphylococcus aureus* à Gram positif et *Escherichia coli* à gram négatif.

Les résultats de notre savon montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *zizyphus lotus L* à un effet antibactérien élève contre les *Staphylococcus aureus*, et un effet faible contre l'*Escherichia coli*.

4. Evaluation de l'activité anti oxydante

Détermination de la concentration inhibitrice médiane (IC50)

Les valeurs d'IC50 sont déterminées graphiquement à partir la courbe linéaire entre les différentes concentrations des extraits phénoliques ou les antioxydants standards choisis (l'acide ascorbique) et la variation du pourcentage d'inhibition I %.

L'IC50 est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (extrait ou toute autre substance antioxydant) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des

radicaux. Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés.

Tableau08: pourcentage d'inhibition du DPPH

| La concentration | 25 | 50 | 100 | 200 | 250 |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| l'absorbance | 0.467 | 0,414 | 0.351 | 0.337 | 0.334 |
| L'inhibition | 43.94 | 50.30 | 57.86 | 59.54 | 59.90 |

Les activités antiradicalaires des extraits *Zizyphus lotus* et de la référence ont été déterminées par la méthode au DPPH. Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivantes:

Extrait d'éthanol: $Y = 0.062x + 46.50$

Extrait de référence : $Y = 0.052x + 47.27$

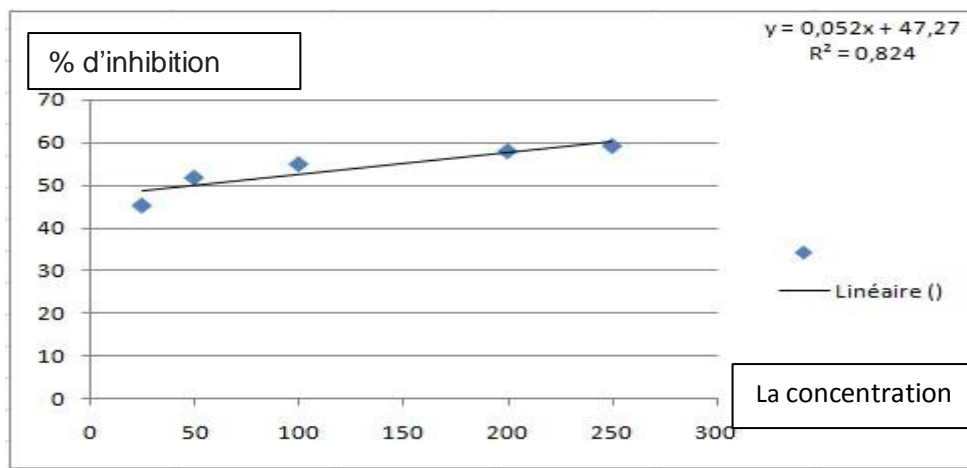


Figure 19: la courbe d'étalonnage de l'antioxydant de référence (acide ascorbique)

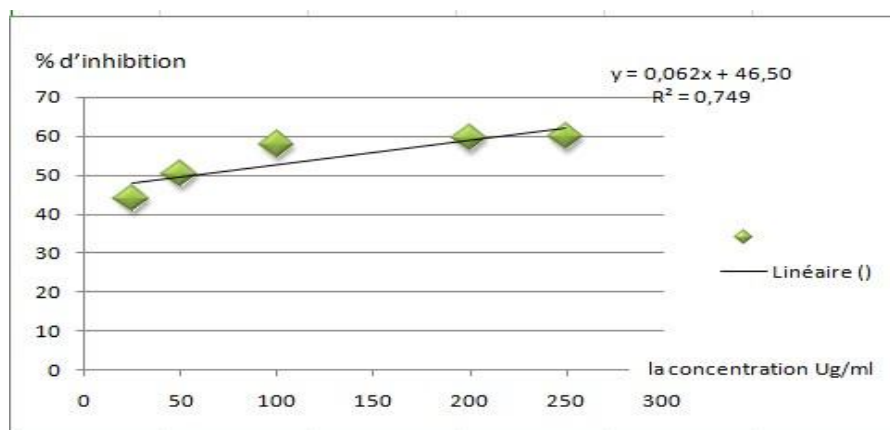


Figure 20: la courbe d'étalonnage des échantillons

Interprétation des courbes

La courbe montre une faible différence entre le pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Zizyphus lotus* par rapport au pourcentage d'inhibition d'acide ascorbique. L'extrait éthanolique présente un pourcentage d'inhibition inférieure à 50% pour les concentrations (25Ug/ml) et supérieure à 50% pour les concentrations (50,100,200 et 250Ug/ml), alors que l'acide ascorbique présente une inhibition inférieure à 50% pour les concentrations (25Ug/ml) et supérieure à 50 % pour les concentrations (50,100,200 et 250Ug/ml).

Discussion

D'après les résultats de la courbe l'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait éthanolique de *Zizyphus lotus* et d'Acide ascorbique.

L'antioxydant standard l'acide ascorbique montré une activité antioxydant puissante avec une IC₅₀ De l'ordre de **52.5µg/ml** et Les extraits éthanolique de *Zizyphus lotus* représente une activité antioxydant avec une CI₅₀ de **56.45µg/ml**.

Les résultats, montrent que l'extrait éthanolique des feuilles de *Zizyphus lotus* inhibe 87.54% du DPPH, et la vitamine C inhibe 95.03% du radical oxydant. D'après les résultats obtenus par les deux courbes, l'acide ascorbique présente un pourcentage d'inhibition plus élevée par rapport à l'extrait éthanolique des feuilles de *Zizyphus.lotus*. D'après les résultats, il semble que l'inhibition du radical libre DPPH augmente progressivement avec l'augmentation des concentrations des extraits de feuilles de *Z.lotus* et l'acide ascorbique.

$$I (\%) = \frac{(\text{Abs}_{\text{blanc}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}})}{\text{Abs}} \times 100$$

Abs_{blanc} = Absorbance à 517nm pour 1ml de la solution de DPPH

Abs_{échantillon} = Absorbance à 517nm de l'extrait éthanolique de *Z.lotus* : 1ml de la solution

L'inhibition du radical DPPH est donné IC₅₀, cette valeur est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait qui est capable de piégé 50% des radicaux libres, dans le mélange réactionnel, plus la valeur de d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande.

Tableau 09: Calcul de l'indice d'AAI de Zizyphus lotus et de la vitamine C

| | IC50 (µg/ml) | AAI |
|------------------|--------------|-------|
| Acide ascorbique | 52.5 | 65 |
| L'extrait | 56.45 | .4456 |

Selon les résultats obtenus (Tableau 10) l'extrait éthanolique des feuilles de *Z.lotus* exerce une activité antioxydant avec un IC50= 56.45µg/ml avec une AAI=.4456. Cependant la capacité de antioxydant de l'extrait éthanolique des feuilles de *Z.lotus* est forte parce que l'AAI, il se trouve entre $65 > AAI > .4$, et il est proche de l'antioxydant synthétique de référence : Vitamine C (IC50=52.5µg/ml).

Puisque les valeurs d'IC50 sont inversement proportionnelles à l'activité anti-radicalaire. La valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité la plus élevée (Boubekri, 2014).

Notre résultat est similaire à celui obtenu par DJAFER Asmaa et DERBAL la plus forte activité (92.89%) a été exposée par l'extrait éthanolique à une concentration respectivement de 0.4 mg/M (IC50% : 0.287mg/ml) Ces résultats sont plus faible que les résultats de notre travail et cela peut être attribué à la concentration des extraits.

**CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**

Conclusion et perspective

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. L'étude des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes a concerné une plante appartenant à la famille des Rhamnaceae, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques. Les données des travaux scientifiques étudiés fournissent une base scientifique pour expliquer l'utilisation d'une espèce végétale le *Zizyphus lotus*.

L'activité biologique *in vitro* d'extrait des feuilles du *Zizyphus lotus*, nous a permis d'extraire des résultats curieux qui montrent que l'extrait testé est actif.

Les résultats obtenus pour l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Z. lotus* de Chéfa présente une activité inhibitrice plus élevée contre l'un des deux souches testés, et que la bactérie *Staphylococcus aureus* (Gram positif) est plus sensible alors la bactérie *Escherichia coli* (Gram négatif) est avérée moins sensible. Ces activités à cause de la concentration de polyphénols, flavonoïdes plus importante que les autres extraits.

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique a été évaluée par la méthode de la réduction de radicaux DPPH, l'activité anti radicalaire est élevée et presque égale à l'antioxydant de référence.

Notre travail est basé sur la formulation d'une crème et un savon antimicrobien naturel à base d'extrait des feuilles de *Z. lotus* de la région de Chéfa.

Notre perspective d'avenir est d'étudier chaque extrait séparément puis isoler, purifier et identifier les différentes molécules responsables de ces deux activités.

Évaluation *in vivo* l'activité anti-inflammatoire, antivirale et antimutagène et d'autres activités biologiques de chacun de ces composés pris séparément. Puis, incorporé dans d'autres types de produits cosmétiques.

LES
REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Les références bibliographiques

-A-

Abdeddaim, M. L. (2014). *Biochemical characterization and nutritional properties of Zizyphus lotus L. fruits in Aures region, northeastern of Algeria.* Food science and technology, 15, 75-81.

Abdoul-Azize. (2006). *Potential Benefits of Jujube Zizyphus Lotus (L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health.* Journal of nutrition and metabolism.

Aberkane.M. (2006). *Etude phytochimique de la plante Publicaria laciniata.* batna: Thèse De doctorat Université EL-HADJ LAKHDAR-Batna. pp 166.

Aissa.f, B. (1999). *ntes médicinales en Algérie. Bouchène et Addiwen.* Alger,; Bouchène et Addiwen.

Vardar-Ünlü G. ; Candan F. ; Sökmen A. ; Daferera D. ; Polissiou M. (2003). ;Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch et Mey Var *pectinatus* (Lamiaceae).

Amzal, T. e. (2016). *Optimisation d'extraction assistée aux ultrasons de composés phénoliques et l'activité antioxydante des différentes parties de Ziziphusjujuba (feuilles, pulpe et graines).*

-B-

Bahorum. (1997). *Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une sourced'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research council Mauritias pp 83-94.*

Bajerska, J. W.-C. (2011). *Green tea aqueous extract reduces visceral fat and decreases protein availability in rats fed with a high-fat diet.* Nutrition Research, 31(2), 157-164.

Bamouh. (2002). *La lutte chimique contre le jujubier. Programme National de transfert de technologie en agriculture . DERD rabat n.94.p.4.*

Blot, W. L. (1993). *Nutrition intervention trials in Linxiansupplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease –. china: Th e Journalof th e NationalCance rInstitute.*

Borgi, W. &. (2009). *Anti-spasmodic effects of Zizyphus lotus (L.) Desf. extracts on isolated rat duodenum.* Journal of Ethnopharmacology, 126(3), 571-573.

Boubekri, C. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanummelongenapar des techniques électrochimiques.* Thèse présentée en

vuedel'obtention Du diplôme de Doctorat en sciences Spécialité Chimie. Université Mohamed Khider , Algérie ,Mohamed Khider – Biskra-alger.

Bouhache, R. e. (2002). *La lutte chimique contre le jujubier .programmeNational de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA),. DERD (Ed) Rabat.*

Bruneton. (1993). *Pharmacognosie phytochimie. Plantes médicinales. 2éme édition. P 915.*

Bruneton.J. (1999). *Bruneton J., 1999. Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes médicinales. Lavoisier. paris: Lavoisier. 3ème édition.*

-C-

C, G. A. (2007). *Jujube Fruit: a magic fruit berry for emotion controlling and more. .Pure Herb and extract processing and formation.*

Catoire C., Z. H. (1999). *Les jujubiers ou le Ziziphus. Fruits oubliés, . article.*

Cetkovic G ., C.-B. J. (2008). *Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. foodChemistry, 109:340-347 .*

Charpentie, B. e. (2006). *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. . Le cahier des Techniques de l'Inra.pp79-82.*

Charpentier, B. N. (2006). *Méthode rapide d' évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d' un arbre forestier. Le cahier des Techniques de l' Inra. P 79-82.*

Chouaibi, M. M. (2012). *Nutritional composition of Zizyphus lotus L. seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture.*

-D-

Dacosta. (2003). *Les phytonutriments bioactifs. paris: .Yves Dacosta .317 p .*

-F-

Formica J-V et Regelson W. (1995). *Review of the Biology of quercétin and relatedBioflavonoids. Chem.Toxic, 33:1061-1080 .*

-G-

G, K. A. (1999). *Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals . journal of the American dietetic association, 99:213-218.*

G, P. R. (1960). *Les plantes médicinales des régions arides. Unesco (Ed).*

Ghazghazi, H. A. (2014). *Fatty acids composition of Tunisian Zizyphus lotus L.(Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts.*

Ghedira. (2013). *k.Desf (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. Phytothérapie, 11, P 149-153.*

Ghedira, K. C. (1993). *Two cyclopeptide alkaloids from Zizyphus lotus.* Phytochemistry,.

Ghestem A., S. E.-M. (2001). *Le préparateur en pharmacie . paris: .Dossier 2.Editions*

TEC
.275p .

Gravot A, S. e. (2000). *Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Support decours sur le métabolisme secondaire d'Antoine Gravo.* Université de Rennes.

-H-

Hammi, K. M. (2015). *optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian Zizyphus lotus fruits using response surface methodology. . Food chemistry, 184, 80-89.*

-J-

J, B. (2000). *Larousse des arbres et des arbustes.* Canada : . Larousse (Ed).

J, B. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, ., (3ème éd). Tec et Doc (Ed),.*

Jawanda J.S., B. J. (1981). *Ber cultivation in Punjab. . Punjab Horticultural Journal,.*

-K-

K, M. R. (2009). *Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species.* Journal of Tropical Forest Science.

-L-

Laamouri A., A. Y. (2008). *Comparative study of the root system growth and development of three Tunisian jujube species. .Geography Ecology Tropical.32: 37-46.*

LABBANI. (2021.2022). *Biochimie végétale. (C. 4. phénoliques, Interprète) L3-BPV-FSNV/UFMC, Algérie.*

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

Le Crouéour, G. T. (2002). *lotusine G: a new cyclopeptide alkaloid from Zizyphus lotus.* Fitoterapia, 73(1), 63- 68.

Leenen, R. R. (2000). *a single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans.* European Journal of Clinical Nutrition, 54(1), 87-92.

Lullmann H, M. K. (1998). *Atlas de poche de pharmacologie.* paris .

-M-

M, C. (2012). *Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de Salvadora L.* Ouagadougou Burkina Faso : Université d'Ouagadougou Burkina Faso .

M., L., & J, E. M. (2002). *Evaluation of antifungal and molluscidal activities of Moroccan Zizyphus lotus (L.)* . Annales Pharmaceutiques Françaises, 60 .

M., R. N. (2002). La lutte chimique contre le jujubier. *Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA) DERD (Ed) Rabat. (94) : .*

Marfak. (2003). *Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides.* Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p.

Martinez, J. &. (2000). *Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production.* Biochemical pharmacology, 59(7), 865-870.

Mbaveng A-T .et al. (2008). *Antimicrobial activity of crude extracts and five flavonoids from the twigs of Dorstenia barteri.* Moraceae: Journal of Ethnopharmacology, 116:483-489. milane. (2004).

Millogo, H. G. (2005). *Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés.* Centre Européen de Santé Humanitaire. Lyon, France.

-N-

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

Nikhat, F. S. (2009). *Phytochemistry and Pharmacology of Indian Medicinal Plants Zizyphus Mauritiana Lamk.* Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1(1), 5-10.

-P-

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

Percival, s. (2004). *Microbiology of waterborne diseases.* Amsterdam: Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston.

Petit P et al. (2007). *Crystal Structure of grape dihydroflavonol 4-reductase, a key enzyme in flavonoid biosynthesis.* Mol. Biol, 368:1345-1357. plantes médicinales 2013 terre éditions

popovici C, s. L. (2009). *Evaluation de l'activité anti oxydant des composés phénolique par la réactivité avec le radical libre DPPH.* revue de génie industriel.

-Q-

Quezel P., S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales.*p565. Centre national de la recherche. Paris: tom2.

-R-

Renault, J. H.-H.-O. (1997). *DammaranesaponinsfromZizyphus lotus.* . Phytochemistry, 44(7),1321-1327.

Renault, J. H.-H.-O. (1997). *DammaranesaponinsfromZizyphus lotus.* *Phytochemistry*, 44(7), 1321-1327.

Rsaissi, N. (2013). *Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube 'Zizyphus Lotus(L.) Desf.* "International Journal of Scientific & Engineering Research, vol. 4, pp. 1521–1528.

-S-

S, D. M. (2006). *Proteobacteria : Gamma subclass.* New York: Springer.

Santa, Q. P. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales.* paris: Centre national de la recherch.

schaunberg.p. (2010). *guide des plantes médicinales.* detachaux et niestlé.

Sutherland, B. A. (2006). *Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration.* *The Journal of nutritionalbiochemistry*, 17(5), 291-306.

-T-

Tabutiet al, J. R. (2003). *Traditional herbal drugs of Bulamog.* Uganda .

Tapiero H ., T. K. (2002). *Poly phenol: do they play a role in the prevention of human pathologies?* *Biomed Pharmacother*, 56:200-207.

-V-

Vannette.. (2018). Note de terrain Botanique par l'imageNOTESDETERRAIN.OVER BLOG.COM [en ligne]. pp. <https://notesdeterrain.over-blog.com/2018/08/jujubier-sauvage.html>.

-W-

Wang. (2006). *Recent advances in extraction of nutraceuticals fromplants.* *Trends in Food Science & Technology*, 17, P 300-312.

WHO. (2004). *WHO Guide lines on Safety Monitoring of Herbal Medicines in Pharmacovigilance Systems.*

Annexe

Annexe 1

Produits utilisés

| produits | |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| Ethanol 96% | Eau distillé |
| violet de gentiane | Huile de coco |
| Fuschine | Huile d'olive |
| Lugol | Alcool cetylique |
| Glycérol | Alcool stéarylique |
| Soude caustique | Acide stéarique |
| Gélose nutritive | Gomme guar |
| Gélose Chapman | Emulgin |
| Gélose Mueller-Hinton | 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) |
| Diméthylsulfoxyle(DMSO) | Tryptophane sel eau (TSE) |
| H ₂ O ₂ | DPPH |
| DMSO | |

Matériel non biologique

| Verreries | appareils |
|-----------------------------|---------------------------------|
| Erlen Meyer | Balance de précision |
| Buchers | Broyeur (type : mortier) |
| Entonnoir | Bain marie |
| Flacons | Autoclave réglé à(30°C et 37°C) |
| Pissette | Etuve |
| Fioles | Thermomètre |
| Boîtes pétries | Agitateur |
| Ballons | Plaque chauffante |
| Eprouvette | Rota vapeur |
| Lames et lamelles | Chronomètre |
| Ecouvillons | Microscope |
| Barreau magnétique | Agitateur |
| Pipette gradués | Vortex |
| Micropipettes(100µm,1000µm) | Bec bunsen |

Milieu de culture

Milieu de culture utilisée pour l'étude de l'activité antimicrobienne sont:

La gélose nutritive (GN): est un milieu ordinaire utilisé pour obtenir des colonies bactériennes

La gélose Chapman ou gélose au sel de mannitol: est un milieu sélectif utilisé pour sélectionner le type des bactéries.

Ce milieu est à la fois une gélose sélective et différentielle. Le milieu sélectionnera des organismes qui peuvent vivre dans des zones à forte concentration en sel (chlorure de sodium) et la fermentation du mannitol, mise en évidence par le virage au jaune de l'indicateur pH (rouge de phénol), permet d'orienter le diagnostic.

Préparation de milieu de culture

Préparation de gélose nutritive

Suspendre 30 grammes dans 1 litre d'eau distillée puis Chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.

Stériliser par autoclave à une pression de 15 lb (121 °C) pendant 15 minutes, Après l'autoclave, laisser refroidir à 45-50 °C.

Verser de l'agar nutritif dans des boîtes de Pétri (jusqu'à ce que l'agar soit solidifié).

Ensuite, Conserver les boîtes au réfrigérateur.

Préparation de gélose Chapman

Le milieu de Chapman a été déjà préparé dans des tubes, chaque tube contenant environ 10 ml. Faire fondre le milieu à l'intérieur d'un autoclave à haute température pendant plusieurs minutes.

Devant Bec Bensen, préparez tous les matériels utilisés, stérilisez-le et commencez à préparer le milieu.

Préparez toutes les boîtes de Pétri nécessaires, écrivez sur le côté la date et les informations nécessaires puis Videz le contenu de chaque deux tubes dans un boîte de pétri et laissez-le refroidir, ensuite conserver au réfrigérateur.