

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

MEMOIRE FIN D'ETUDE
MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Analytique



Analyse physico-chimique de la plante *ZIZYPHUS* de quelques régions d'Algérie. Mise en valeur de ses caractéristiques thérapeutiques et tensio-actives.

Présente par :

AICHOUNI MANEL

LAARI AMINA

Devant le jury :

Mme. BOUZIDI NAIMA

Pr U.BLIDA 1

Présidente.

Ms. BOUMESSEDIA SALMANE

Mcp U.BLIDA 1

Examineur.

Mme. ZIANE RANIA

MAA U.BLIDA 1

Promotrice.

2022/2023

Remerciement

En premier lieu, nous remercions dieu de nous avoir donné la force, la patience et le courage nécessaire pour accomplir ce travail.

Nous voulons tout d'abord adresser nos gratitudees à notre cher promotrice madame Zaine.R en la remerciant pour sa patience, sa disponibilité et la qualité de ses conseils durant notre préparation de ce mémoire.

Nous remercions également notre président de jury madame BOUZIDI.N, ainsi que l'examineur monsieur BOUMASSAIDIA .S pour avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous remercions aussi madame DAGHBOUCHE YASMINA, responsable de master chimie analytique pour son aide et ses conseils.

Nous remercions aussi toute l'équipe des laboratoires pédagogiques de chimie en pavillon 5.

Nous remercions aussi à tous le personnel du laboratoire d'Hygiène surtout madame Amina LATRACH auprès desquelles nous avons trouvé un accueil chaleureux, gentillesse, l'aide et l'assistance dont nous avons besoin de notre période de stage.

Nous remercions tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.

Enfin nous remercions toute personne ayant contribué du père.

Ou de loin à la réalisation de notre mémoire de fin d'étude.



Dédicaces

À l'aide de Dieu « ALLAH » tout puissant qui a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail.

Je dédie ce modeste travail : à ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde.

À mon père MOHAMMED et ma mère RAZIKA, qui sont la lumière de mes yeux

L'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés la tendresse la confiance, le courage et la sécurité durant toutes mes années.

À mes adorables sœurs CHAIMAA et NOUR EL HOUDA, mes frères SAIF EL DINE et AYMEN qui étent toujours à mes côtés pendant les moments difficiles.

À tous les membres de la spécialité master chimie analytique, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

Sans oublier mon binôme AMINA pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À mes meilleures amies avec qui j'ai passé mes plus belles années :
KHADIDJA, ISRA et DOUNIA

A tous ceux que j'aime Merci

« MANEL »





Dédicaces

À l'aide de Dieu « ALLAH » tout puissant qui a tracé le chemin de ma
Vie, j'ai pu réaliser ce travail.

Je dédie ce modeste travail : à ma famille spécialement aux personnes les
plus chères au monde.

Mon père AHMED et ma mère ZINEB, qui sont la lumière de mes yeux,
l'ombre

De mes pas et le bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés la tendresse, la
confiance, le courage et la sécurité durant toutes mes années.

À mon frère ADB EL BADIE, qui m'a toujours soutenu et encouragé
durant ces années d'études.

À mes sœurs NOUR EN HOUDA, MANEL et AHLEM qui savent
toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

Sans oublier mon binôme MANEL pour son soutien moral, sa patience et
sa compréhension tout au long de ce projet.

À mes amies BOUCHRA, MAROUA, FATIMA et tous mes collègues
de la spécialité master chimie analytique.

À tous ceux qui ont participé à ma réussite et à tous qui m'aiment

A tous ceux que j'aime Merci

« AMINA »



Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification du jujubier	4
Tableau 2 : Les différents types de tensioactifs.....	20
Tableau 3 : Liste des échantillons	27
Tableau 4 : Résultats des tests du screening phytochimique.....	35
Tableau 5 : Résultats de l'indice d'acide.....	43
Tableau 6 : Résultats de l'indice de peroxyde.....	45
Tableau 7 : Résultats de l'indice de saponification.....	46
Tableau 8 : Résultats de l'indice d'ester.....	47
Tableau 9 : Résultats de l'indice d'iode.....	49
Tableau 10 : Les valeurs de rapports frontaux des deux extractions.	51
Tableau 11 : Les résultats de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des différents échantillons.....	55
Tableau 12 : Les résultats de l'absorbance de DPPH en fonction des concentrations des différents échantillons.....	56
Tableau 13 : Volume de DPPH versé en fonction de la concentration de 3 échantillons.....	58
Tableau 14 : Les résultats des analyses microbiologiques.....	62
Tableau 15 : Les valeurs de conductivité en fonction de la concentration des différents échantillons..	64
Tableau 16 : Les valeurs de la tension superficielle de l'échantillon B.....	66
Tableau 17 : Les valeurs de la tension superficielle de l'échantillon D.....	66
Tableau 18 : Les valeurs de la tension superficielle de l'échantillon G.....	67
Tableau 19 : Les valeurs de la tension superficielle de l'échantillon J.....	68
Tableau 20 : Les valeurs de la tension superficielle de l'échantillon E.....	68

Liste des figures

Partie théorique:

Figure 1: Arbuste du jujubier.....	3
Figure 2: Feuilles de <i>Zizyphu jujuba</i>	4
Figure 3: Fruits de <i>Zizyphus jujuba</i>	5
Figure 4: Fleures de <i>Zizyphus jujuba</i>	5
Figure 5: Racines de <i>Zizyphus jujuba</i>	6
Figure 6 : Répartition géographique des espèces de la famille des Rhamnacées.	6
Figure 7 : Aire de répartition du <i>Zizyphus</i> en Algérie.....	7
Figure 8 : Classification des polyphénols.	13
Figure 9 : Structure générale des flavonoïdes.....	14
Figure 10 : Structure basique des acides phénoliques.....	14
Figure 11 : Structure d`acide tannique.....	15
Figure 12 : Représentation schématique d`une molécule amphiphile.....	19
Figure 13 : Différentes familles de tensio-actif.....	20
Figure 14 : Comportement des tensioactifs en milieux aqueux (phénomène de micellisation).....	22
Figure 15 : Structure des agrégats formés à partir de molécules tensioactives.....	22
(A) Micelle sphérique, (B) Cylindrique, (C) Structure en bicouche, (D) Micelle sphérique inverse.	
Figure 16 : Relation entre la forme micellaire et le paramètre d`empilement.....	23
Figure 17 : Différents types d`émulsions.	24
Figure 18 : Mécanismes réactionnels du teste DPPH.	25

Partie expérimentale :

Figure 1: préparation d`échantillon.....	27
Figure 2: préparation des extraits de montage a reflux.....	28
Figure 3 : préparations des extraits par soxhlet.....	29
Figure 4: préparations des extraits de macération.....	29
Figure 5 : Histogrames des resultats du rendenemt des extractions.....	30
Figure 6 : variation du pH en fonction des échantillons.....	30

Figure 7 : Variation de la teneur en eau en fonction de la concentration.....	31
Figure 8 : Résultats des teneurs en cendres de nos échantillons.....	32
Figure 9 : Variation de la teneur en cendre en fonction de la concentration.....	33
Figure 10 : préparation de la Chromatographie sur couche mince (CCM).....	50
Figure 11 : chromatographie couche mince.....	51
Figure 12 : la courbe de pourcentage d`inhibition de DPPH standard (Acide ascorbique/n-butanol-chloroforme).....	55
Figure 13 : les courbes des pourcentages d`inhibitions de DPPH de différentes échantillons...	55
Figure 14 : les courbes d`étalonnages de différents échantillons.....	56
Figure 15 : Histogramme d`IC50.....	57
Figure 16 : Le volume de DPPH versé en fonction de la concentration.....	59
Figure 17 : Dilution successive.	64
Figure 18 : Les courbes de conductivité en fonction de la concentration.....	64
Figure 19 : Graphe de tension superficielle d`échantillon B.....	66
Figure 20 : Graphe de tension superficielle d`échantillon D.....	67
Figure 21 : Graphe de tension superficielle d`échantillon G.....	68
Figure 22 : Graphe de tension superficielle d`échantillon J.....	68
Figure 23 : Graphe de tension superficielle d`échantillon E.....	69
Figure 24 : Préparation des solutions filles.....	69
Figure 25 :Emulsification avec l` huile de soja et surnageant	70
Figure 26 : Le spectre ATR-FTIR d`échantillon B de jujubier.....	71
Figure 27 : Le spectre ATR-FTIR d`échantillon C de jujubier.....	72
Figure 28 : Le spectre ATR-FTIR d`échantillon D de jujubier.....	73

Liste d'abréviations :

Abs : absorbance.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CMC : concentration micellaire critique.

DPPH : 2,2-diphényle 1-picrylhydrazyle.

IA : indice d'acide.

IC50 : concentration Inhibition de 50% des radicaux.

Id : indice d'iode.

IE : indice d'ester.

IFTR : Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier.

IP : indice de peroxyde.

IS : indice de saponification.

PI : pourcentage d'inhibition.

OGA : gélose glucosé à l'oxytétracycline.

TSE : Tryptone sel eau.

TGEA : glucose Tryptone extrait de levure.

UV : ultraviolet.

VRBL : gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge.

Z.jujuba : Zizyphus jujuba.

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	
Partie théorique	
I. Généralités sur <i>Zizyphus jujuba</i>	3
1. Historique	3
2. Classification de la plante du jujubier <i>zizyphus</i>	4
3. Description botanique du jujubier	4
4. Répartition géographique	6
5. Conditions environnementales appropriées pour <i>Zizyphus</i>	7
II. Activités biologiques et thérapeutiques du <i>Zizyphus</i>	7
1. Activités anti-inflammatoires et analgésiques	8
2. Activités anti-fongiques et anti-mollusques	8
3. Activités anti-ulcérogéniques	8
4. Autres activités	8
III. Utilisations de <i>Zizyphus jujuba</i>	8
1. Utilisation traditionnel	8
2. Utilisation alimentaire	10
3. Utilisation en cosmétique	11
4. Utilisation médicinale	11
5. Autre utilisation	12
6. Utilisations des rameaux secs et épineux	12
IV. Aspect physico-chimique	12
1. Les composés phénoliques	12
2. Les techniques d'extractions	15
Méthodes conventionnelles	15
V. Analyses chimiques	16
1. Définition du pH	16
2. Définition de la Conductivité électrique	16
3. Spectroscopie d'absorption ultraviolet-visible (UV-Vis)	17
4. Spectroscopie infrarouge a traversée de Fourier	17
5. Chromatographie sur couche mince (CCM)	17
7. Tensioactifs	18
8. Emulsions	22
➤ formulation et caractérisation	22

➤	Classification des émulsions	22
VI.	Analyses microbiologiques	23
1.	l'activité antioxydante	23
2.	L`analyse microbiologique	24
Partie expérimentale		
I.	Description de l'échantillonnage	27
1.	Caractéristique morphologique	27
2.	Préparation des échantillons	27
3.	Préparation des extraits	28
a.	Extraction classique (montage a reflux)	28
b.	Extraction par soxhlet	28
c.	Extraction par macération	29
II.	Résultats et discussion	30
a.	Détermination du PH	30
b.	Les Teneurs	31
1)	La teneur en eau	31
2)	La teneur en cendre	32
c.	Les tests screening phytochimiques.....	33
a)	Flavonoïdes	33
b)	Teste des sucres (Fehling)	33
c)	Teste de saponosides (la mousse).....	33
d)	Teste des terpènes	34
e)	Teste de phlorotannins	34
f)	Teste d'alcaloïdes	34
g)	Teste de diterpènes	34
h)	Teste de stérols	34
i)	Teste de tanins	34
j)	Teste des anthraquinones	34
d.	Les indices	41
1.	Indices d'acide (IA)	41
2.	Indice de peroxyde (IP)	43
3.	Indice de saponification	44
4.	Indice d'ester (IE)	46
5.	Indice d'iode (Ii)	47
e.	La chromatographie sur couche mince	49
f.	L`activité anti-oxydante	50
g.	L`analyse microbiologique	55
1.	Dénombrement des micro-organismes a 30°C	55
2.	Recherche des coliformes thermo tolérants à 44 °C.....	56

3. Recherche et dénombrement des levures et moisissures	56
4. Recherche et dénombrement des clostridium sulfite réducteur a 46°C	57
5. Recherche des salmonella	57
i. La concentration micellaire critique (CMC)	59
j. La tension superficielle	61
J. Les émulsions	65
k. spectrophotomètre Infrarouge à transformée de Fourier	66
➤ échantillon (B)	66
➤ échantillon (C)	67
➤ échantillon (D)	68
Conclusion générale.....	73

Résumé

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances et composés naturels bioactifs. *Zizyphus jujuba* est une plante ancestrale utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie.

Les Différentes techniques et procédures d'expérimentation ont été réalisées sur les extraits des feuilles du *Zizyphus jujuba* à travers l'étude des propriétés physicochimiques, l'étude quantitative par dosage des métabolites secondaires, l'étude qualitative par réalisation de la chromatographie sur couche mince, l'activité antioxydante par la méthode colorimétrique (DPPH), l'analyse microbiologique, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, l'étude du caractère tensioactif de cette plante (*Zizyphus jujuba*) et sa capacité à former des émulsions.

Les résultats des tests phyto-chimiques ont révélé la présence de polyphénols, de polysaccharides, de saponines... Les résultats des indices (indice d'iode, indice de peroxyde, indice d'acide...) sont similaires aux données bibliographiques sauf les valeurs de l'indice d'iode qui sont très faibles.

Les valeurs de l'IC50 des échantillons D et J sont les plus faibles, leurs activités anti- oxydantes se sont donc révélées les plus élevées.

Les analyses microbiologiques montrent la présence de clostridium, de levures, et de moisissures non novices, ainsi que l'absence de coliformes fécaux.

Les polysaccharides présents, les valeurs de l'indice de saponification et les courbes de la concentration micellaire critique ont montré que cette plante possède un caractère tensioactif et a la capacité à former des émulsions. Une émulsion est obtenue avec l'échantillon G, macéré dans l'eau à une concentration de 3,125% en présence d'huile de soja.

Il est nécessaire de rechercher et de formuler des émulsions de bases naturelles avec *Zizyphus* dans le domaine de l'alimentation sans additions d'ingrédients d'origine chimique, et d'étudier leur stabilité.

Abstract

Medicinal plants represent an inexhaustible source of bioactive natural substances and compounds. *Zizyphus jujuba* is a plant ancestral used in traditional medicine in Algeria.

The different experimental techniques and procedures were carried out on the extracts of the leaves of *Zizyphus jujuba* through the study of the physicochemical properties, the quantitative study by dosage of secondary metabolites the qualitative study by carrying out thin layer chromatography, antioxidant activity by the colorimetric method (DPPH), microbiological analysis, Fourier transform infrared spectroscopy, study of the surfactant character of this plant (*Zizyphus jujuba*) and its ability to form emulsions.

The results of the phyto-chemical tests revealed the presence of polyphenols, polysaccharides, saponins... The results of the indices (iodine index, peroxide index, acid index...) are similar to the bibliographic data except for the values of the iodine number which are very weak.

The IC50 values of samples D and J are the lowest, their antioxidant activities were therefore found to be the highest.

Microbiological analyzes show the presence of clostridium, yeasts, and non-novice molds, as well as the absence of faecal coliforms.

The polysaccharides present, the values of the saponification index and the curves of the critical micellar concentration showed that this plant has a surfactant character and has the ability to form emulsions. An emulsion is obtained with sample G, macerated in water at a concentration of 3.125% in the presence of soybean oil. It is necessary to research and formulate emulsions of natural bases with ziziphus in the field of food without additions of ingredients of chemical origin, and to study their stability.

المخلص

النباتات الطبية هي مصدر لا ينضب للمواد والمركبات الطبيعية النشطة بيولوجيًا. السدر هو نبات أجداد يستخدم في الطب التقليدي في الجزائر.

تم تنفيذ تقنيات وإجراءات تجريبية مختلفة على مستخلصات أوراق السدر من خلال دراسة الخصائص الفيزيائية الكيميائية، والدراسة الكمية عن طريق تحديد المستقلبات الثانوية، والدراسة النوعية باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، والنشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة قياس الألوان، التحليل الميكروبيولوجي، يحول مطياف الأشعة تحت الحمراء، دراسة الطابع الخافض للتوتر السطحي لهذا النبات (السدر) وقدرته على تكوين المستحلبات.

كشفت نتائج الاختبارات الكيميائية النباتية عن وجود البوليفينول، والسكريات المتعددة، والصابونين... نتائج المؤشرات (مؤشر اليود، مؤشر بيروكسيد، مؤشر الأحماض، إلخ) مشابهة للبيانات الببليوغرافية باستثناء قيم مؤشر اليود المنخفضة جدًا.

هي الأدنى، لذلك تم العثور على أنشطتها المضادة للأكسدة لتكون الأعلى J و D للعينات IC50 قيم

تظهر التحليلات الميكروبيولوجية وجود الكلوستريديوم والليفور وقوالب غير أصلية، بالإضافة إلى عدم وجود القولون البرازي.

أظهرت السكريات الموجودة وقيم مؤشر التصبغ ومنحنيات التركيز الدقيقة الحرجة أن هذا النبات له طابع خافض ، مقشر في الماء G للتوتر السطحي وله القدرة على تكوين مستحلبات. يتم الحصول على مستحلب مع عينة بتركيز 3.125٪ في وجود زيت فول الصويا.

من الضروري بحث وصياغة مستحلبات قاعدية طبيعية مع زيزيفوس في مجال الغذاء دون إضافة مكونات ذات أصل كيميائي، ودراسة استقرارها.

Introduction

Les ressources végétales spontanées constituent une source d'intérêt primordiale pour l'homme et ses besoins [1]. L'Algérie a des types importants; il est constitué d'arbres et d'arbustes dont la plupart sont sous-développés, parmi ceux-ci, le (*Zizyphus*).

Zizyphus est connu sous le nom de jujube et appartient à la famille des Rhamnaceae qui compte 58 genres et plus de 900 espèces . Le genre *Zizyphus* se produit spontanément et compte environ 170 espèces, grâce à son système racinaire profond, il s'adapte aux différents types de sols, des multiples climats . Il est cultivé dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique. Le *zizyphus* est répandu dans la région méditerranéenne, là où l'Algérie s'y étale et au nord du Sahara, à l'exception de la colline algérienne du Constantinois [1].

Le jujubier sauvage a une immense importance et présente de nombreux avantages que ce soit sur le plan écologique, nutritionnel, cosmétique ou médicinal . L'importance écologique de la plante *Zizyphus* dans les régions arides et semi arides est remarquable dans la stabilisation des écosystèmes fragilisés par la désertification et à l'équilibre des pâturages secs grâce à ses racines qui poussent rapidement et atteignent de grandes profondeurs. Elle supporte la chaleur élevée et le froid modéré et peut pousser par temps sec, elle résiste également aux pénuries d'eau dans des conditions climatiques difficiles [1].

Cette espèce a montré au cours du temps que l'être humain peut l'utiliser à des fins thérapeutiques (troubles urinaires, diabète, infections cutanées ... et maladies inflammatoires en général) et alimentaires (utilisation des feuilles en tisane, consommation des fruits...).

Dans ce travail nous avons essayé de donner un aperçu sur les propriétés physicochimiques et antioxydantes des feuilles de jujubier, nous avons également essayé de mettre en valeur ses propriétés tensioactives et sa capacité à formuler des émulsions. Ainsi, les objectifs principaux de la présente étude sont :

- D'évaluer la plupart des propriétés physico-chimiques (pH, teneur en eau, teneur en cendres...).
- D'Analyser différents métabolites secondaires présents dans les feuilles avec des tests phytochimiques.
- D'évaluer leurs propriétés antioxydantes, l'activité anti radicalaire (au DPPH) et les analyses microbiologiques.

- D'étudier le caractère tensioactif de cette plante (*Zizyphus jujuba*) et sa capacité à former des émulsions avec des huiles alimentaires telle que l'huile de soja, et autre.
- D'essayer à travers cette étude de montrer que cette plante en plus de ses effets thérapeutiques connus elle peut remplacer certains produits chimiques utilisés comme tensioactifs, stabilisants et cotensioactifs dans les préparations alimentaires industrielles.

Ce mémoire s'organise selon le plan suivant :

- Une première partie réservée aux généralités sur *Zizyphus*, les activités et utilisation de cette plante.
- Une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale où nous rapporterons la méthodologie suivie, les résultats obtenus et les commentaires qui en découlent.

CHAPITRE 1:
Partie théorique

I. Généralités sur *Zizyphus jujuba* :

1. Historique :

Le *Zizyphus* également connu sous le nom de jujube est un arbuste épineux et fruitier, appartenant à la famille des angiospermes Rhamnacées. Il est indigène de la Chine, connu comme un fruit dans ce pays au moins 4000 années avant l'ère chrétienne, présent en Asie et en Méditerranée (France, Maroc, Tunisie et nord d'Algérie). Découvert en 1767, le nom de *Zizyphus* dérive de l'appellation Berbère « Zizoufou Zuzaifo ». Cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique « Zizfum ou Zizafun », alors que les grecs utilisent le mot « Ziziphon » [2].

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 *Zizyphus spinachrist* (L.), *Zizyphus vulgaris* (Mill.), *Zizyphus lotus* (L.), *Zizyphus mauritiana* (Lam.). Les deux espèces qui produisent des fruits comestibles sont *Zizyphus mauritiana* et *Zizyphus jujuba*; cette dernière est l'espèce la plus populaire. L'arbre de jujube est appelé dans les pays arabes: Sidre, Nabk, Anneb, et en Chine datte chinoise [2]. L'espèce jujuba s'adapte facilement à la salinité des sols, aux excès d'eau et à la sécheresse, la propagation de cet arbre se fait généralement par la graine, parfois par bouturage de racine ou par la greffe.



Figure 1: Arbruste du jujubier [2].

2. Classification de la plante du jujubier *zizyphus*:

La classification botanique de cette plante est résumée ci-dessous (Tableau 01) :

Tableau 1: Classification du jujubier

Classification classique	Classification APG III (2009)
Règne : Plantae	Règne : Plantae végétal
Sous-règne : Tracheobionta	Sous-règne : Tracheobionta
Embranchement : Magnoliophyta	Embranchement : Phanérogames
Sous-embranchement : Magnoliophytina	Sous-embranchement : Angiospermes
Classe : Magnoliopsida	Classe : Dicotylédones
Sous-classe : Rosidae	Sous-classe : Rosidae
Ordre : Rhamnales	Ordre : Rhamnales
Famille : Rhamnacées	Famille : Rhamnacées
Tribu : Ziziphae	Tribu : Ziziphae
Genre : <i>Zizyphus</i>	Genre : <i>Zizyphus</i>
Espèce : <i>Zizyphus jujuba</i>	Espèce : <i>Zizyphus jujuba</i>

3. Description botanique du jujubier :

Zizyphus est un arbre ou arbuste épineux à croissance lente qui se trouve soit à l'état isolé, soit en peuplements purs qui peut atteindre 3 à 8 m de haut et 50 à 60 cm de diamètre du tronc. Il est à port arrondi, à ramure tortueuse, à brindilles (effilées, verdâtres, souvent épineuse) et à écorce fissurée [3].

a) Feuille :

La feuille de jujubier est appelée gingeolier, dindoulier, chichourlier, guinourlier, croc-de-chien. Caduques, alternes, à stipules épineuses, allongées, le limbe est finement denté, vert foncé brillant dessus avec 3 nervures se rejoignant au sommet. Disposées par deux à l'aisselle des feuilles, plus ou moins droites et effilées. L'une orientée vers le haut, atteint 1.8cm de long, l'autre orientée vers le bas, est un peu plus courte [1].



Figure 2: Feuilles de *Zizyphus jujuba*

b) Fruits :

Le fruit de *Z. jujuba* appelé aussi « jujube » est une drupe ovale, charnue et consommable.

D'abord verdâtre, présente la saveur et l'arôme d'une pomme [4], puis devient rouge noir et ridé à maturité, avec un goût d'une datte, d'où son nom datte chinoise, et noire violacée éventuellement pour le jujube séché. Il est ovoïde-oblong, de 1,8 à 2 cm de long avec un court pétiole. Les noyaux, plus souvent détachables des pulpes, peuvent atteindre 1,05 cm de long [4].



Figure 3: Fruits de *Zizyphus jujuba*

c) Fleurs :

Les fleurs de *Zizyphus* sont très visibles de couleurs jaunes en étoiles, petites de 5 cm de largeur avec 5 pétales inaperçus et un ovaire supère bisexuel et fleurissent en juin et juillet. Elles ont un long pédoncule floral et les étamines sont disposées en un cycle de 5 et sont groupées en inflorescence sous forme de cycle auxiliaire sessile.

Le jujubier se reproduit très fréquemment par fécondation [4].



Figure 4: Fleures de *Zizyphus jujuba*

d) Racines :

Les recherches ont montré que les racines de cette plante contiennent principalement :

- flavonoïdes, saponines de type damarane [5].
- alcaloïde cyclopeptidiques lotusines A-G [5].
- tanins [5].



Figure 5: Racines de *Zizyphus jujuba*

4. Répartition géographique :

a. Dans le monde :

Les Rhamnacées sont présentes dans le monde entier, mais plus particulièrement dans la région tropicale et subtropicale, et elles sont très anciennes. Selon (Judd, Campbell, Kellogg, Stevens, & Donoghue, 1999) cette famille est constituée d'arbres et d'arbustes, souvent épineux et les feuilles possèdent des stipules, parfois épineuses. Ces feuilles sont alternes ou plus rarement opposées ou palmées, a réseau tertiaire souvent grillage et en relief. Cet arbuste exige un climat plus chaud pour fleurir et fructifier (Couverchel, 1852) c'est la raison pour laquelle les climats de l'Asie et de l'Amérique tropicales lui conviennent. Le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales de deux hémisphères [2].

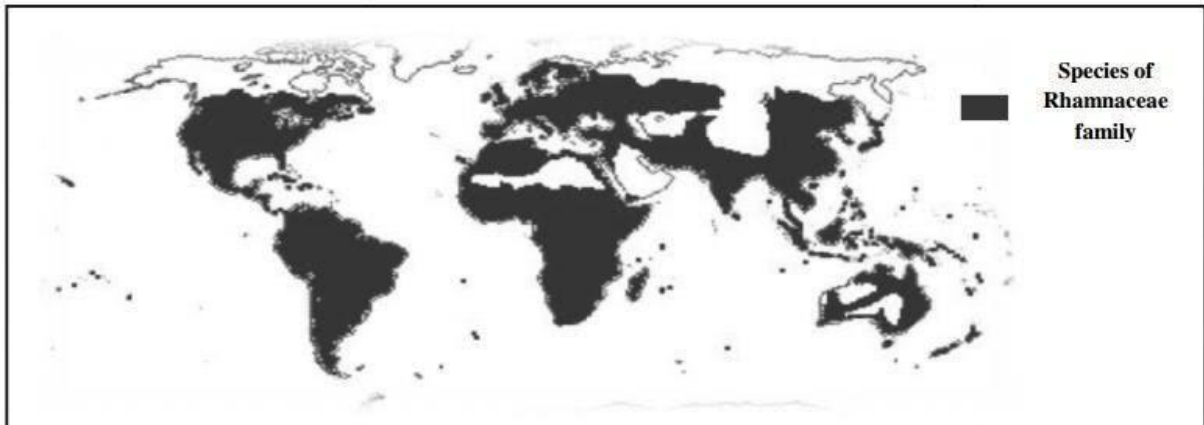


Figure 6 : Répartition géographique des espèces de la famille des Rhamnacées

b. En Algérie :

Le *Zizyphus* est répandu dans les régions arides du sud algérien caractérisées par un climat sec tel que la wilaya Djelfa et le climat désertique de Laghouat [3], elles se trouvent également dans la ville de "Ain Smara" wilaya de Constantine.

Il y a aussi dans la région de Harrouch et le gouvernorat de Skikda et Tamlous et Constantine dans la municipalité de l'Ain Smara et Hamma Bouziane [3].

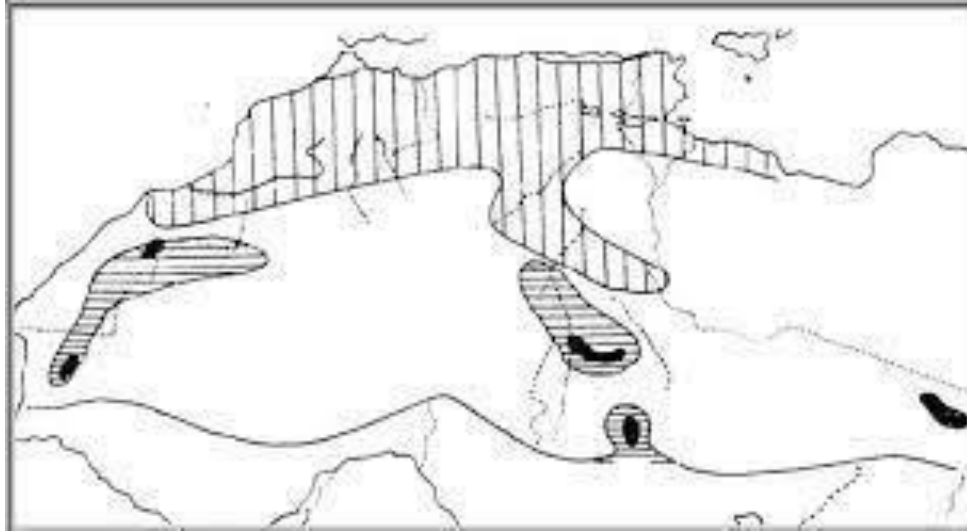


Figure7 : Aire de répartition du *Zizyphus* en Algérie [3].

5. Conditions environnementales appropriées pour *Zizyphus* :

Les spécialistes et les experts agricoles confirment que Sidra est l'un des meilleurs arbres économiquement les plus fructueux. Cela ne coûte aucun effort aux jardiniers, comparé aux qualités qu'il remplace dans la culture d'autres types de plantes, comme les agrumes et autres arbres fruitiers [3]. Sidra se développe dans les zones chaudes et sèches avec un sol pauvre et résiste à la salinité du sol, il est considéré comme la meilleure des plantes qui supportent de telles conditions.

a. Climat :

L'arbre sidre convient à différentes conditions environnementales, mais les arbres ont besoin d'un hiver chaud, car nous avons découvert que sa chaleur est faible dans les régions chaudes et tempérées. Il a la capacité de résister à une élévation de température allant jusqu'à 50° C et également de résister à la baisse dans certaines mesures en cas de sécheresse par exemple, les petits arbres ne résistent pas longtemps à ce déclin. Les arbres reprennent leur activité dans le printemps suivant quand ils se réchauffent.

b. Le sol :

Zizyphus Lotus se développe sur tous les types de terre ; sablonneux, pauvre en nutriments, sols calcaires, sol boueux, car il se caractérise par sa tolérance à la croissance dans les zones humides pendant une période de temps, ce qui indique la tolérance des arbres Sidra Sécheresse [3].

II. Activités biologiques et thérapeutiques du *Zizyphus* :

Les différentes espèces du *Zizyphus* sont largement utilisées dans le traitement de certaines maladies comme : les troubles digestives, la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie [2]. Les recherches

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

1. Activités anti-inflammatoires et analgésiques :

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une activité anti-inflammatoire significative. Le *Zizyphus lotus* inhibe la production de monoxyde d'azote (NO), cette activité apparaît potentiellement avec l'extrait méthanoïque de l'écorce des racines qui est la source possible de l'agent anti-inflammatoire dans la réaction de l'hypersensibilité retardée induite par oxazolone [5].

Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs : les flavonoïdes et les saponines [5]. Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses [5].

2. Activités anti-fongiques et anti-mollusques :

Les différents extraits (éthéré, chloroformique, extrait d'acétate d'éthyle et méthanoïque) de *Zizyphus lotus* se sont avérés très actifs in vitro vis-à-vis de neuf souches des champignons pathogènes et des mollusques *Balinus truncatus* (hôtes intermédiaires et vecteurs de la transmission de la bilharziose) [5].

3. Activités anti-ulcérogéniques :

Le *Zizyphus lotus* (les feuilles, l'écorce des racines) possède une importante activité antiulcérogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effets gastroprotecteur [5].

4. Autres activités :

Les fruits de *Zizyphus lotus* sont décrits comme adoucissant, et entrent dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaires. De même, la poudre des feuilles sèches et des fruits est appliquée dans le traitement des furoncles. D'ailleurs l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* est utilisée dans la médecine traditionnelle dans le traitement du diabète [5].

III. Utilisations de *Zizyphus jujuba* :

Le jujubier sauvage présente plusieurs avantages en termes de nutrition, cosmétique et médecine [6].

1. Utilisation traditionnel :

Le jujubier est bien connu comme espèce fruitière dans les zones où il est rencontré mais il est aussi connu pour ses propriétés thérapeutiques. Presque tous ses organes sont utilisés dans le domaine de la médecine traditionnelle surtout les racines, les écorces, les feuilles.

a. Utilisations des feuilles :

Les feuilles de *Z. jujuba* peuvent être utilisées dans la préparation du thé sous forme d'infusion [2]. Elles contiennent plusieurs alcaloïdes comme la coclaurine, l'isoboldine, la norisoboldine, l'asimilobine, l'iusiphine et l'iusirine. Ces substances ont été le point d'intérêt de plusieurs études, qui ont montré l'utilisation de ces feuilles comme agent hypoglycémiant pour les diabétiques dans certaines régions de la Turquie. D'autres études ont prouvé les effets hypnotiques et sédatifs des feuilles, connues comme régulatrices de l'activité du système nerveux central en réduisant l'anxiété, en favorisant le sommeil [2].

Les feuilles fournissent par distillation une huile essentielle ayant des propriétés antibactériennes. Il y a aussi une substance dans les feuilles telle que la zizyphine qui supprime partiellement ou totalement le goût sucré chez l'Homme. Elle est assez puissante pour contrarier l'effet du rebaudioside de *Stevia rebaudiana*, et supprime la sensation sucrée de la majorité des édulcorants naturels (sucre, glucose, ...). En outre, elles sont communément utilisées en emplâtres sur les plaies infectées ou non infectées dans les régions déshéritées ou quand il n'y a pas d'antiseptiques ou de pansements grâce à son contenu en flavonoïdes et tanins [2].

b. Utilisations des fleurs :

Outre le fait qu'elles présentent un nectar de bonne qualité, les fleurs de *Z. jujuba* peuvent traiter quelques maladies. La fleur du jujubier est de petite taille, mais attire les butineurs, le miel tiré est réputé pour son goût et ses propriétés aphrodisiaques. Le miel de jujubier est très recherché pour ses qualités thérapeutiques, notamment pour soigner le diabète, les maladies du foie et de l'estomac. Il est de loin considéré comme le miel le plus cher au monde, il est également appelé "Or du Yémen". Pour plusieurs espèces de *Zizyphus*, notamment *Z. mauritiana*, les fleurs émettent une substance volatile odoriférante, le scatol (ou scatole) qui possède la particularité d'avoir un parfum agréable à faible concentration et d'avoir une odeur à forte concentration [2].

c. Utilisations des fruits :

Les fruits secs du jujubier sont fréquemment utilisés contre les maladies immunitaires et infectieuses. Ils présentent plusieurs activités biologiques anti-microbiennes et anti-HIV.

La pulpe est souvent utilisée dans l'industrie pharmaceutique, Elle contient des ingrédients actifs et diminue le taux du cholestérol dans le sang [2].

En Chine comme en Corée, cet arbre fruitier produit une grande quantité de fruits délicieux qui sont recommandés pour le traitement des infections inflammatoires de la gorge, des voies respiratoires, des inflammations intestinales, urinaires ainsi que pour traiter la constipation [2]. En 2001, Pareek a signalé que la pulpe est riche en certaines substances nutritives tel que les protéines, le phosphore, le calcium, le carotène... etc.

d. Utilisations des graines :

Les graines de *Z. jujuba*, sous forme de poudres, assurent la purification du sang et facilitent la digestion. Plusieurs études leur accordent d'autres activités (hypnotique, sédative, hypotensive et hypothermique). Elles peuvent aussi agir comme tranquillisantes des muscles. De ces graines, on extrait des huiles à plusieurs activités industrielles et pharmaceutiques. En 2006 certains chercheurs, ajoutent d'autres applications immunitaires et cosmétiques à ces organes qui peuvent être utilisés aussi dans le traitement des maladies des yeux. De plus, les graines contiennent plusieurs groupes de substances actives sur le fonctionnement du système nerveux central qui ont une action sur l'apparition et la durée du sommeil, sur l'humeur et sur l'excitabilité cérébrale. Les composés les plus actifs des graines de jujube sont les jujubosides et les alcaloïdes: sanjoinine ou franguloline, nuciférine, zizyphusine, cochlaurine [2].

Les graines de jujube torréfiées légèrement possèdent un bon pouvoir hypnotique. Ces composés ont été surtout étudiés en Chine et en Corée pour leur pouvoir hypnotique, anticonvulsiant, antiépileptique, anxiolytique et sédatif pour justifier les utilisations traditionnelles du fruit du jujubier dans ces pays. Ainsi, le jujuboside A réduirait l'hyperactivité des neurones. Parmi les substances actives, la sanjoinine A semblé la plus intéressante pour son pouvoir sédatif et calmant. Cependant, les effets sédatifs de la plante seraient attribuables à sa teneur en triterpènes, un des composants du noyau de son fruit [2].

e. Utilisations des racines :

L'espèce *Z. jujuba* est connue par ses racines trop développées lui conférant ainsi une résistance à la sécheresse. En effet, outre leurs effets tonifiants, ses racines apaisent les maux de l'estomac et du foie. Elles sont utilisées en décoction puis bues comme un thé. Elles sont aussi utilisées en médecine traditionnelle sous forme de poudres pour cicatrifier les blessures [2]. Les racines du jujubier contiennent plusieurs agents antipaludéens contre le *Plasmodium falciparum*, et également des antibactériens et antiparasitaires vis-à-vis des vers intestinaux et de microorganismes provoquant la tuberculose, la syphilis, les diarrhées, les douleurs abdominales, l'indigestion, la fièvre, l'empoisonnement. Elles sont généralement prises sous forme d'infusion et soignent aussi les inflammations de l'intestin et les hépatites [2].

2. Utilisation alimentaire :

a. Fruits :

Ils sont en général l'intérêt principal du jujubier. Ils sont consommés frais ou séchés, pouvant être dans ce dernier cas réduits en pâte ou en farine pour diverses utilisations alimentaires (gâteaux ou pain, condiments, boisson rafraichissante ou hydromel) [2]. Le fruit est largement consommé par les populations et peut être transformé en farine pour faire la bouillie [7].

La pulpe est utilisée pour extraire le jus [7].

La pulpe séchée donne une farine qui, une fois comprimée permet d'avoir des petits pains de saveur agréable, utilisés comme provisions par les nomades lors de leur grand déplacement [7].

Elle est aussi macérée dans l'eau pour donner une boisson rafraichissante. Elle est également utilisée pour faire les marmelades, la crème glacée ou en confiture [7].

b. Graines :

Elles sont une grande source de matières grasses. De plus, des recherches ont montré que l'huile de jujube est de qualité équivalente à celle de l'huile de baleine [7].

c. Feuilles :

Elles sont utilisées comme légumes en soupe ou dans le couscous [2].

3. Utilisation en cosmétique:

Le noyau de jujube broyé fournit une huile de qualité utilisée en cosmétique. C'est une huile prodigieuse car elle convient à tous les types de peaux. En effet, elle régénère les peaux sèches tandis qu'elle régule les peaux grasses. Cette huile est aussi efficace en prévention des rides et rend la peau du visage plus lumineuse et éclatante. L'huile du jujube est aussi prescrite pour traiter différentes maladies de la peau, telles que le psoriasis, l'eczéma, les furoncles, l'acné et les boutons [2].

Le jujubier est utilisé pour les soins des cheveux car il est riche en saponosides et en mucilages, c'est un ingrédient de choix dans les shampoings végétaux en pâte car il lave les cheveux et le cuir chevelu grâce à ses actifs permettant d'éliminer les gras et saletés. Le jujubier est très riche en mucilages astringentes, cette poudre est également utilisée dans les soins des cuirs chevelus inconfortables et pour lutter contre les pellicules. Ces mucilages lui confèrent des vertus adoucissantes et apaisantes qui peuvent être utilisé comme masque sur peaux agressées: eczéma, boutons et acné.

4. Utilisation médicinale :

L'utilisation traditionnelle du *Zizyphus lotus* dans certaines maladies inflammatoires et douloureuses est bien connue [7]. Le *Zizyphus lotus* est utilisé en médecine traditionnelle et ancestrale, aussi bien en Afrique du Nord qu'au Moyen-Orient, pour traiter de nombreuses maladies (obésité, troubles urinaires, diabète, infections cutanées, fièvre, diarrhée, insomnie, inflammation) [8].

Les feuilles de *Zizyphus* ont un effet hypoglycémiant et une efficacité antiseptique.

L'infusion de fleurs est utilisée comme antiseptique pour les yeux et antipyrétique. Les feuilles par distillation fournissent une huile essentielle aux propriétés antibactériennes. Les feuilles et l'écorce de racine possèdent une activité anti-ulcéreuse importante attribuée à la présence de tanins et de flavonoïdes [7].

Le fruit de *Zizuphus lotus* est une source importante de nutriments ainsi que d'antioxydants, d'antimicrobiens, d'antifongiques, d'immun modulateurs, de composés anti- inflammatoires et anti-ulcéreux. Les fruits ont également des effets antitumoraux, et sont décrits comme sédatifs, et sont utilisés pour traiter les irritations de la gorge et des bronches.

Tandis que l'extrait de racine a des propriétés anti-inflammatoires, des activités antalgiques, antifongiques et antibactériennes [8].

5. Autre utilisation:

a. Feuilles :

Elles sont très appréciées par les chèvres et les moutons [8].

b. Bois :

Résistant aux termites, il sert à faire des piquets, des poteaux, pieds de lits, manches d'outils, d'ustensiles de cuisine [8].

6. Utilisations des rameaux secs et épineux :

Les rameaux secs et épineux du jujubier sont utilisés pour former des clôtures défensives. Les feuilles sont employées largement comme une réserve fourragère d'appoint pour les chameaux et les chèvres [63]. C'est la seule espèce ligneuse spontanée qu'on rencontre aux limites Nord du Désert. En Afrique, le bois du jujubier est utilisé pour la sculpture et la menuiserie [2].

IV. Aspect physico-chimique :

1. Les composés phénoliques :

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire.

Ils participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel [9].

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux, bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) [9].

Les composés phénoliques constituent l'un des groupes de produits chimiques les plus étendus du règne végétal, dans lequel plus de 8000 composés ont été isolés et décrits par une structure caractérisée par la présence, au moins, d'un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles.

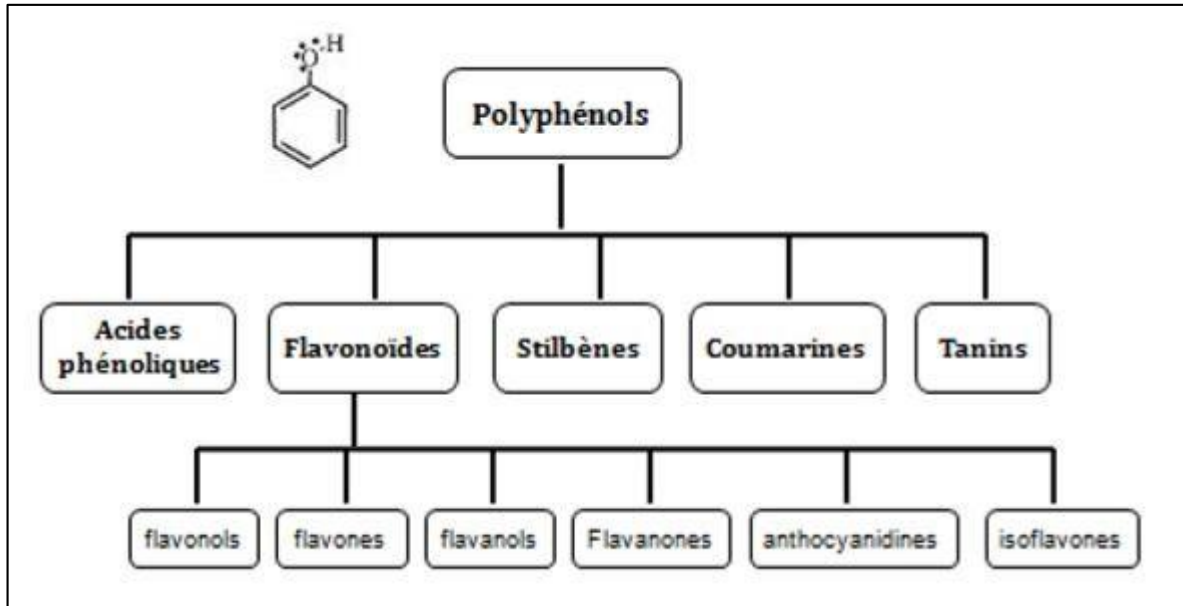


Figure 8 : Classification des polyphénols.

a. les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus étudié des polyphénols. Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'organe, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus : (flavus=jaune) [10].

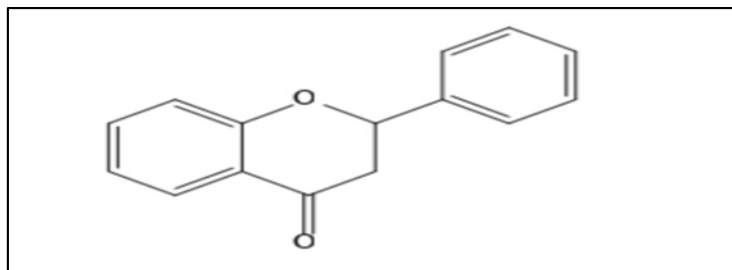


Figure 9 : structure générale des flavonoïdes

b. les Acides phénoliques :

Les acides phénoliques se trouvent en abondance dans les aliments et sont divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Fig. 10) [10].

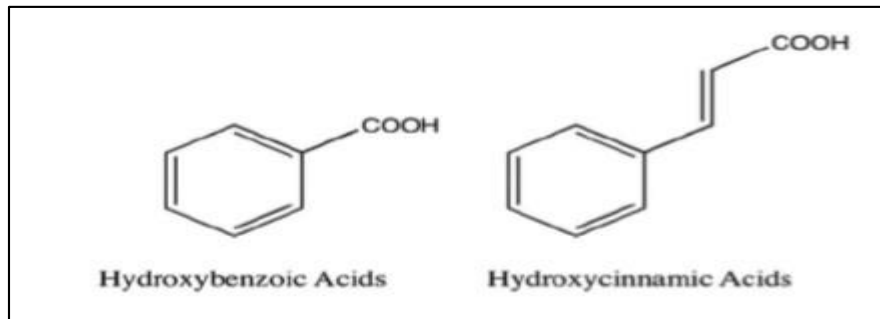


Figure 10 : Structure basique des acides phénoliques.

c. les Tanins :

Les tanins sont des composés plus gros que les classes décrites précédemment. En effet, ce sont des molécules de polymère (Fig. 11). Deux sous-classes se distinguent encore parmi les tanins : les tanins hydrolysables sont dérivés d'acides phénoliques simples, qui sont liés au Sucre par estérification et les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères de flavan-3-ols (catéchines) et de flavan-3,4-diols (leucoanthocyanines), ils ne sont que partiellement solubles dans l'eau et l'alcool [10].

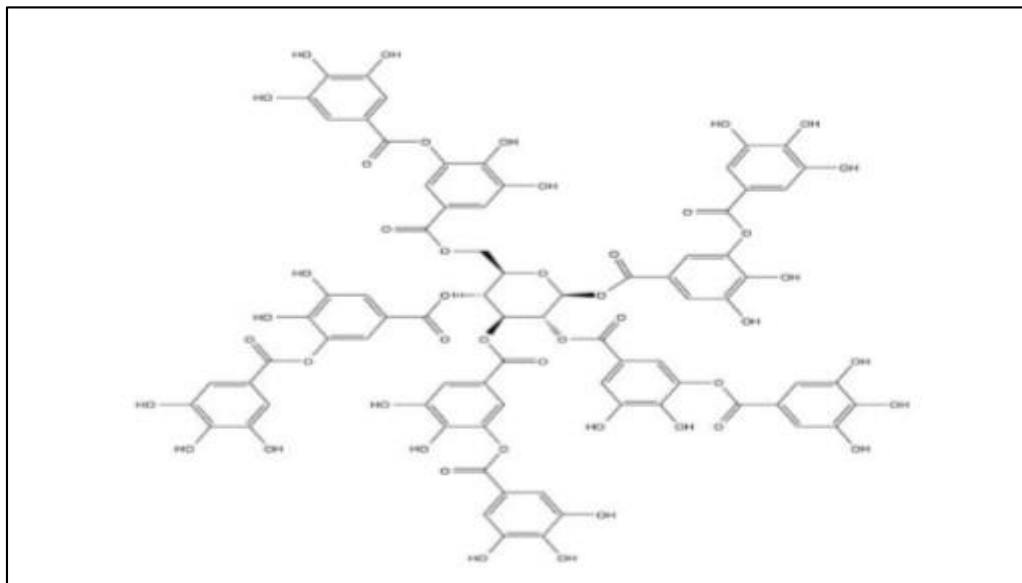


Figure 11 : structure d'Acide tannique.

d. Les Saponines :

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensioactifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal. Le nom "saponine" est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie "savon", en effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution mousse.

e. les Alcaloïdes :

Parmi les premiers produits naturels isolés des plantes médicinales, les alcaloïdes ; il s'agit de composés organiques à structure azotée hétérocyclique, plus ou moins basique d'origine naturelle, végétale, principalement dans les angiospermes, à des exceptions encore (lycopolidine de lycopode,

palustrine chez Equisetum) sont extraits soit dans l'eau acide ou dans des solvants tels que le chloroforme après alcalinisation.

Les alcaloïdes ont été divisés en trois classes principales selon les précurseurs et la structure finale :

- Alcaloïdes vrais : dérivés des acides aminés, basiques et contiennent l'azote dans l'hétérocycle comme la nicotine.
- Pseudo-alcaloïdes (typique) : similaire à la propriété de véritables alcaloïdes, ils sont basiques mais ne dérivent pas d'acides aminés comme la caféine [10].
- Proto-alcaloïdes (atypique) : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, elles ont un caractère basique et sont produites in vivo à partir d'acides aminés comme la colchicine.

2. Les techniques d'extractions :

L'extraction est une soustraction des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. 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.

Méthodes conventionnelles :

➤ Macération :

L'extraction par macération est utilisée depuis longtemps pour extraire les tanins condensés et les polyphénols à partir des écorces d'arbres comme l'Acacia mollissima, 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 [13].

➤ Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est utilisée dans les études de comparaison des méthodes d'extraction comme témoin. Elle est utilisée pour l'extraction des polyphénols à partir des fruits et des végétaux [11]. Son principe est basé sur l'échange entre la matière à extraire et le solvant pur. La matière 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.

Une fois le corps d'extracteur plein, le solvant retourne dans le ballon accompagné des substances à extraire. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. Cette technique présente l'intérêt d'être simple, peu coûteuse, permettant l'épuisement de la matière en extractibles mais d'un autre côté, elle nécessite un temps d'extraction long et une quantité de solvant importante [12].

Les techniques d'extraction traditionnelles, ont certes démontré leurs efficacités mais aussi leurs limites en termes de productivité, de rentabilité et de qualité des extraits. La nécessité de dépasser ces limites a favorisé l'émergence de nouvelles technologies, telles que l'extraction assistée par micro-ondes, par fluide supercritique et aussi par ultrasons. Mais le choix de la méthode d'extraction reste toujours en fonction des composés recherchés, et du coût de mise en œuvre qu'on vise à investir.

V. Analyses chimiques :

1. Définition du pH :

Le terme " pH " est l'abréviation de "pondus hydrogeni", le poids de l'hydrogène ou « potentiel hydrogène ». La notion de pH introduite en 1909 par le chimiste danois Sørensen, qui, travaillant sur les effets des concentrations de quelques ions sur des protéines, remarque l'importance des ions hydrogènes (appelés aujourd'hui ions oxoniums H_3O^+ (aq)) et décide d'introduire le concept de pH. Le pH est utilisé pour estimer les concentrations en ions d'hydrogène. Il permet de mesurer si le milieu est acide ou basique. Le pH a été défini comme l'inverse du logarithme décimal de la concentration en ion hydrogène : [15]

$$pH = -\log|H_3O^+|$$

2. Définition de la Conductivité électrique :

La conductivité électrique est une grandeur physique qui décrit dans quelle mesure une substance conduit le courant électrique. Elle détermine si une substance convient comme isolant ou comme conducteur électrique. Elle est également utilisée pour identifier les substances.

La conductance électrique dépend à la fois des propriétés du matériau et de ses dimensions. Plus la section transversale est grande et plus la distance entre les pôles est courte, plus le courant circule. Pour les déclarations générales sur le matériau, la dépendance des dimensions doit être exclue. Pour ce faire, la conductance (G) est rapportée à la surface de la section transversale (A) et à la distance (L). On obtient ainsi la conductivité électrique (sigma) d'une substance.

La mesure de la conductivité se fait indirectement en mesurant le courant qui s'établit à une tension donnée dans des conditions définies. Les instruments de mesure modernes fournissent la valeur directement en convertissant le courant déterminé à l'aide des constantes de l'appareil. Il faut se rappeler que la conductivité électrique dépend de la température. La relation entre les grandeurs électriques et la température est étudiée plus en détail dans le domaine de la thermoélectricité. [14]

3. Spectroscopie d'absorption ultraviolet-visible (UV-Vis) :

La spectroscopie d'absorption ultra-violette visible est une méthode analytique quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution et déterminer la concentration d'un soluté dans une solution.

A cet effet on trouve la loi de BEER LAMBERT qui s'exprime par la relation suivante :

$$A = \log_{10} (I_0/I) = \epsilon lc$$

A : l'absorbance (la densité optique) qui mesure la capacité d'un milieu à absorber la lumière qui le traverse.

I_0 et I : Intensité du rayonnement avant et après avoir traversé le milieu absorbant respectivement.

ϵ : Coefficient d'absorption molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$).

l : L'épaisseur de la cuve (la longueur de solution à traverser en cm).

C : Concentration de l'échantillon ($mol \cdot L^{-1}$). [16]

4. Spectroscopie infrarouge a traversée de Fourier :

Spectroscopie infrarouge est une technique analytique simple et rapide permettant de déterminer la présence de divers groupes fonctionnels. Elle permet de déterminer leurs structures à partir des vibrations de leurs liaisons chimiques. L'analyse IRTF a été effectuée à une gamme 400-4000 cm^{-1} . [17]

5. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique chromatographique en lit ouvert qui est généralement réalisée sur une fine couche de phase stationnaire enduite sur une plaque de verre ou d'aluminium. Elle est couramment utilisée dans de nombreux laboratoires de l'industrie chimique / pharmaceutique et des industries connexes, à la fois pour des travaux qualitatifs et semi-quantitatifs. Des analyses quantitatives, bien entendu, peuvent également être effectuées. Certains laboratoires trouvent cette technique extrêmement utile et affirment qu'une très bonne précision peut être obtenue, même à des niveaux d'analyse très bas. Cependant, des mesures élaborées doivent être prises pour assurer la précision. [18]

6. Concentration micellaire critique (CMC) :

La CMC est par définition la concentration en solution d'un agent de surface au-dessus de laquelle une partie des molécules dispersées au sein de la solution se rassemblent pour former des micelles. [19]

Les micelles se forment lorsque les portions hydrophobes, incapables de former des liaisons hydrogène en phase aqueuse, créent une forte augmentation de l'énergie libre du système. Une façon d'abaisser cette énergie est d'isoler la partie hydrophobe de l'eau par adsorption sur des matrices organiques ou de former des micelles. [20]

En effet, dans les micelles, les parties hydrophobes se regroupent vers le centre, et les portions hydrophiles restent en contact avec l'eau.

7. Tensioactifs :

a. Définition :

Les tensioactifs ou agents de surface sont des molécules amphiphiles qui modifient la tension superficielle entre des surfaces constituées de deux parties différentes de nature antagoniste :

- la partie polaire ou ionique est la partie hydrophile aussi appelée tête polaire et donc soluble en milieu aqueux.
- la partie apolaire ou peu polaire est la partie hydrophobe aussi appelée chaîne Hydrocarbonée linéaire ou branchée qui peut contenir des hétéroatomes comme l'oxygène, l'azote le soufre ... et donc insoluble dans l'eau. [21]

Selon Dupasquier, M.-L. et al : Un tensioactif (aussi appelé surfactant ou agent de surface) est une molécule modifiant la tension interfaciale entre deux phases.

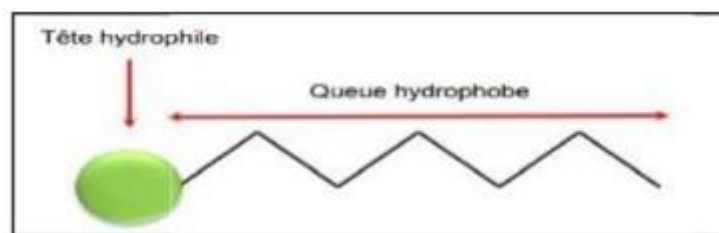


Figure 12: Représentation schématique d'une molécule amphiphile

b. Structure des tensioactifs:



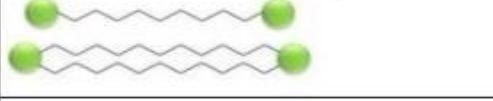

On peut classer les tensioactifs en plusieurs types en fonction de leur structure

- Structure monocaténaire : contenir une tête hydrophile et une chaîne hydrophobe
- Structure Bicaténaire et Tricaténaire : possèdent plusieurs chaînes hydrophobes greffées sur la même tête hydrophile
- Structure Bola forme monocaténaire, et bicatinaire : est constituée de plusieurs têtes hydrophiles reliées à une ou plusieurs chaînes hydrophobes. [22]

- Les tensioactifs géminés sont constitués de deux têtes polaires portant chacune une chaîne alkyle et reliées par un segment hydrophile ou hydrophobe appelé espacer. [23]

c. Les différents types de tensioactifs :

Tableau 2 : les différents types de tensioactifs.

Structure d'un tensioactif	Type d'un tensioactif
	Structure monocaténaire
	Structure Bicaténaire et Tricaténaire
	Bola forme monocaténaire, et bicaténaire
	Géminé

Il existe différentes familles possibles de tensioactifs qui peuvent être classés selon :

- la nature de tête polaire (la charge)
- la longueur de la partie hydrophobe
- La disposition et le nombre de pôles hydrophiles et lipophiles au sein de la molécule. [24]

On distingue ainsi quatre classes de tensioactifs : les non-ioniques, les anioniques, les cationiques et les amphotères.

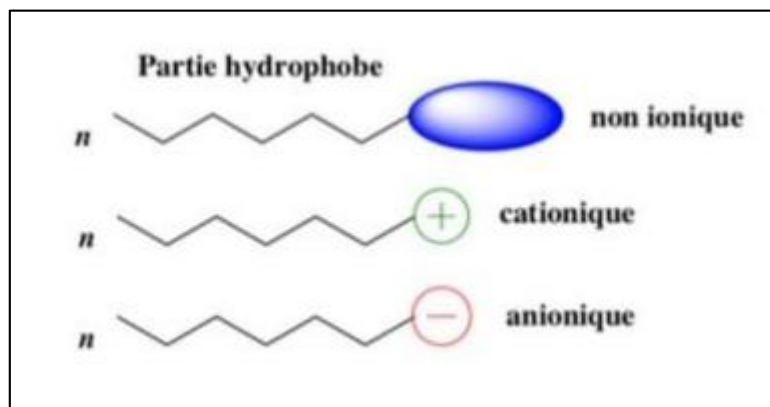


Figure 13 : différentes familles de tensions actifs.

d. Les propriétés des tensioactifs :

➤ **Tension superficielle :**

Dans une solution aqueuse, les tensioactifs adsorbent à l'interface liquide/air pour réduire le contact entre leur partie hydrophobe et l'eau conservant sa partie hydrophile dans une solution. Par conséquent, certaines molécules d'eau à l'interface seront remplacées par des molécules de

surfactant provoquant une modification à la surface du liquide, il y a une réduction de la tension superficielle.

(γ) : tension superficielle

(F) : Une force qui est définie comme l'énergie libre

(A) : par rapport à l'aire interfaciale

(T) : à la température

(v) : volume

(n) : composition constante. [25]

$$\gamma = \left(\frac{\partial F}{\partial A} \right)_{T, V, n}$$

➤ Comportement des tensioactifs dans l'eau :

La structure amphiphile des molécules tensioactives cause une très forte tendance à migrer aux interfaces de la solution. Constitué de deux parties de nature antagoniste, le tensioactif possède un comportement spécifique dans un solvant polaire:

- les parties hydrophobes insolubles dans l'eau tendent à s'arranger aussi près que possible les unes des autres pour réduire le contact avec l'eau
- les parties hydrophiles solubles dans l'eau se repoussent le plus Possible. [26]

Ainsi en milieu aqueux, les molécules amphiphiles vont se placer préférentiellement à l'interface eau/air jusqu'à saturation de cette dernière, les autres molécules tendent à s'auto-liaison dans des agrégats appelés micelles à partir d'une concentration critique, pour limiter l'interaction entre l'eau et les chaînes hydrophobes. Un tensioactif engendre une réduction de la tension superficielle par l'effet d'un film mono moléculaire. [27]

La formation aléatoirement de ces agrégats engendre alors une modification des propriétés physico chimiques de la solution comme la conductivité et la tension de surface ...etc.

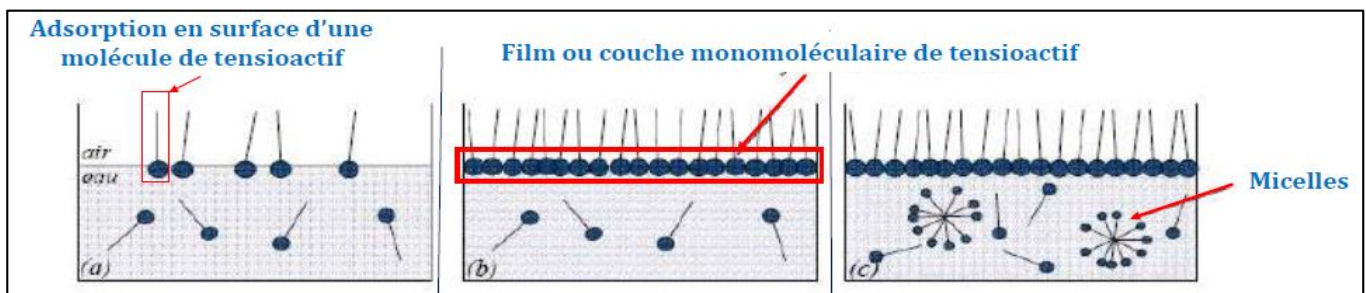


Figure 14:comportement des tensioactifs en milieu aqueux (Phénomène de micellisation).

(a). dans un milieu aqueux, les molécules amphiphiles sont de préférence disposées sur l'interface eau/air jusqu'à ce que la saturation de cette dernière soit atteinte.

(b).lorsque la concentration est augmentée dans les tensioactifs en solution, les molécules amphiphiles s'accumulent dans l'interface de sorte que la tête hydrophile est à l'intérieur, formant à la surface de la solution une monocouche compacte.

(c).après une certaine concentration appelée concentration micellaire critique la solution est saturée en molécules tensioactifs qui n'ont plus d'autre alternative que la conformation stable formant une micelle.

➤ Morphologie des agrégats:

L'existence de différence d'affinité de la partie hydrophile et la partie hydrophobe dans la même molécule, est à la source de ses propriétés de l'organisation automatique dans l'eau. Ces dernières propriétés, peuvent conduire à des agrégats de tailles et de morphologies très différentes, ainsi que la capacité des adsorbants pour les interfaces, induisant une réduction de la tension superficielle de l'eau ce qui leur a valu le nom de « tensio-actifs ». [28]

Les molécules surfactives s'auto-lient pour former également une grande variété de structures micellaires par exemple cylindriques, vésiculaires en bicouches, micelles inverses, etc...La formation de ces structures dépend de la nature du tensioactif et de sa concentration, de la nature du solvant mais également d'un rapport géométrique entre les parties hydrophobe et hydrophile. Par exemple, les tensioactifs non ioniques constituent des micelles de grandes tailles, avec un nombre très important d'agrégation (centaines de milliers) par rapport aux homologues tensioactifs ioniques qui forment des micelles plus petites de l'ordre de dizaines à des centaines. [29]

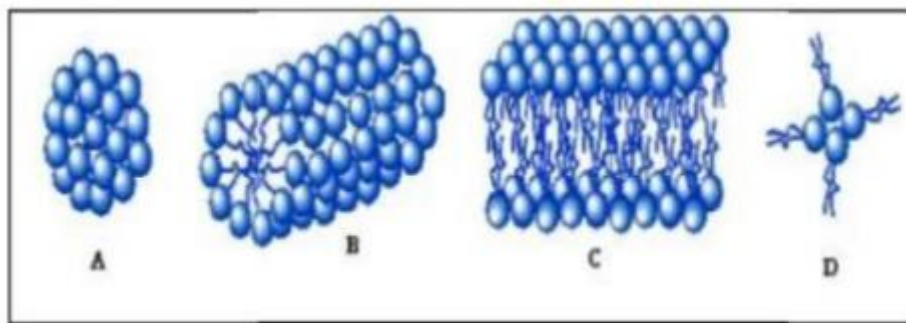


Figure15: Structure des agrégats formés à partir de molécules tensioactives. (a) micelle sphérique, (b) cylindrique, (c) structure en bicouche, (d) micelle sphérique inverse.

➤ Paramètre d'empilement :

L'équilibre entre les forces intermoléculaires dans un agrégat micellaire peut être quantifié via le paramètre d'empilement P (ou géométrique) introduit par Israelachvili et al. [94] Ninham et al [30] ont proposé un paramètre d'empilement P d'un détergent, déterminé par l'équation suivante:

$$P = \frac{V}{(a_0 \cdot l)}$$

V : volume de la chaîne du détergent (Å^3)

l : longueur de la chaîne (Å).

a_0 : Surface de la section à l'interface (\AA^2)

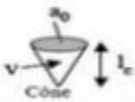




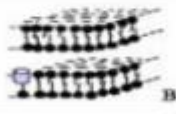


$\frac{v}{a_0 l_c}$	Forme de la molécule de tensioactif	Structures formées
$< 1/3$	 Cône	 Micelles sphériques
$1/3 - 1/2$	 Cône tronqué	 Micelles cylindriques
~ 1	 Cylindre	 Bicouche plane
> 1	 Cône tronqué inversé	 Micelles inverses

Figure 16: Relation entre la forme micellaire et le paramètre d'empilement.

8. Emulsions :

➤ formulation et caractérisation:

Par définition, les émulsions sont des systèmes dispersés de stabilité limitée (possède un minimum de stabilité cinétique ou thermodynamiquement instables formés de deux liquides non miscibles). L'un est dispersé sous forme de globules dans l'autre grâce à la présence d'émulsifiants.

La stabilité est assurée par la présence d'un émulsifiant amphiphile, constituant qui renferme à la fois une chaîne possédant une affinité pour l'huile et un pôle ayant une affinité pour l'eau.

D'après la définition, nous constatons qu'une émulsion comprend trois parties essentielles :

- Une phase dispersante qui correspond à la phase externe ou « continue ».
- Une phase dispersée qui constitue la phase interne ou « discontinue ».
- L'interface (formation d'un film) constituée d'un ou plusieurs agents émulsifiants. [30]

➤ Classification des émulsions :

On peut classer les émulsions suivant deux critères :

- ✓ Le premier critère est selon la nature de la phase dispersante

Il existe essentiellement deux types d'émulsions : les émulsions simples et les émulsions multiples.

- Les émulsions simples (figure 15.a) (une phase dispersée dans une phase continue) : Sont donc de type huile dans l'eau (H/E) ou eau dans l'huile (E/H), l'inversion de phases étant d'ailleurs possible dans certaines conditions.

- Les émulsions multiples (figure 15.b) :

Consistent en une émulsion simple dispersée à son tour dans une phase continue externe.

Elles sont de type E/H/E ou H/E/H.

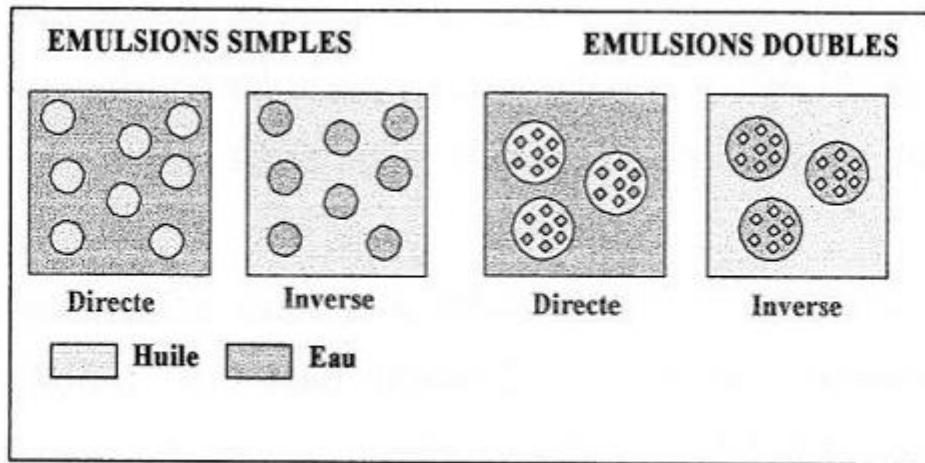


Figure 15 : Différents type d'émulsion.

✓ Le second critère repose sur la taille des particules de la phase discontinue. [31]

- Les macro-émulsions :

Ce sont des émulsions grossières dont le diamètre des gouttes est de 1 à 10 μm .

- Les mini-émulsions :

Présentent des micros domaines qui ne sont pas nécessairement sphériques, de petite dimension, typiquement de l'ordre de 0,1 à 1 μm .

- Les microémulsions:

Elles sont décrites comme des systèmes biphasiques composés de gouttelettes très fines (10-200 nm) d'un liquide dispersés dans un autre liquide.

VI. Analyses microbiologiques :

1. l'activité antioxydante :

La méthode colorimétrique:

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques.

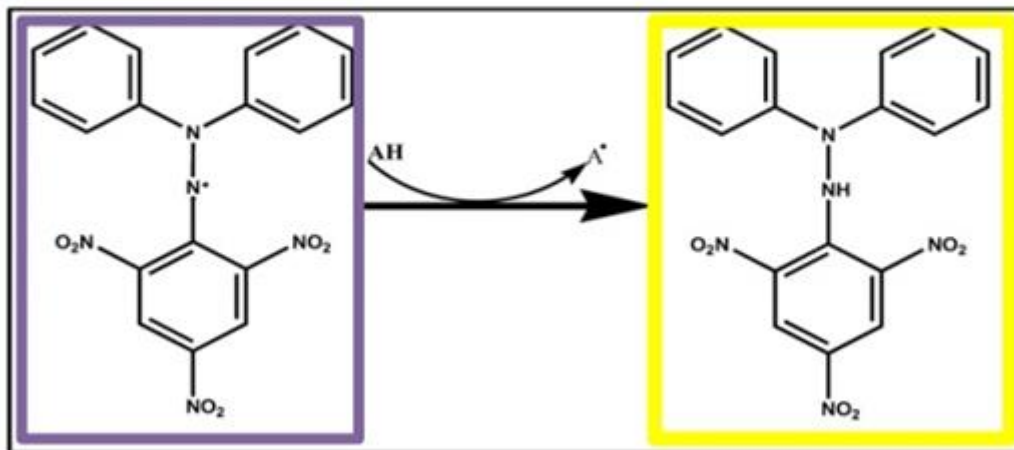


Figure 16 : Mécanisme réactionnel de test DPPH .

Cette méthode est basée sur le principe que le DPPH^\bullet accepte les atomes d'hydrogène (H) des molécules piégeuses (telles que les antioxydants). [31]

La réduction fait changer la couleur de la solution, du violet au jaune.

Le degré de changement de couleur est directement proportionnel à la concentration et à l'efficacité de l'antioxydant, et la réponse est ensuite quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotométrie à 517 nm. Chaque composé antioxydant réagit avec le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) selon sa propre cinétique. [31]

L'étude de la variation de l'activité anti radicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC_{50}). **Une valeur d' IC_{50} faible correspond à une grande efficacité d'antioxydantes.**

2. L`analyse microbiologique :

Dans le but d`étudier l`effet de microbes, champignons, de parasites sur la poudre de *Zizyphus* on procède aux les analyses suivantes :

a. Dénombrement des micro-organismes a 30°C :

Cette méthode permet de dénombrer les microorganismes dans les produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

b. Recherche des coliformes thermo tolérants à 44 °C :

Cette méthode permet de dénombrer et de rechercher des coliformes présents dans le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

c. Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

Cette méthode permet de rechercher et de dénombrer ces microorganismes dans les produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

Ce dénombrement se fait à 25°C en milieu solide et qui va permettre d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant Colonie).

d. Recherche et dénombrement des clostridium sulfite réducteur a 46°C :

Cette méthode permet de dénombrer des bactéries anaérobies dans les produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

e. Recherche des salmonella:

Cette méthode est utilisée pour la recherche des Salmonella dans les produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale. [32]

CHAPITRE 2 :
Partie
Expérimentale

I. Description de l'échantillonnage :

1. Caractéristique morphologique :

La plante qui est l'objet de notre étude montre les caractères morphologiques suivants:

- ✓ Odeur des feuilles de *Zizyphus* de Tizi Ouzou est plus remarquable (très forte).
- ✓ Aspect (la forme) des feuilles diffère selon la région (entre 1cm et 2,5cm).
- ✓ La couleur diffère selon la région (vert clair, vert foncé, marron).

2. Préparation des échantillons :

Les feuilles de jujubier ont été récoltées de différentes régions du pays, elles ont été bien nettoyées, puis séchées dans l'étuve à température 50C°. La partie aérienne (feuilles) a été broyée traditionnellement à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre fine conservée dans un flacon en verre prête à l'utilisation.



Figure1: préparation d'échantillon.

Les différentes analyses sont effectuées sur des échantillons de jujubier, en leur attribuant des codes comme illustré dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3: Listes des échantillons.

Code d'échantillons	Sites d'origine déclarée	Sites d'achat
A	Ain Defla	Miliana
B	Blida	Blida
C	Biskra	Blida
D	Djelfa	Tipaza
E	Tipaza	Tipaza
F	Laghouat	Blida
G	Tizi ousou	Tizi ousou
H	Hassi massoud	Hassi massoud
I	El bayadh	Blida
J	Sidi bel abbes	Sidi bel abbes

3. Préparation des extraits :

Dans le but d'extraire les substances actives de la plante jujubier, trois méthodes d'extraction ont été utilisées, la macération, l'extraction classique (montage a reflux) et par soxhlet:

a. Extraction classique (montage a reflux) :

Dans un ballon de 250ml équipé d'un dispositif de chauffage à reflux, introduire 2 g de poudre et ajouter 25ml de dichlorométhane avec quelques grains de pierre ponce. Maintenir à ébullition à 50° C pendant 1heure, laisser le mélange refroidir et filtrer sur Büchner et récupérer le filtrat.

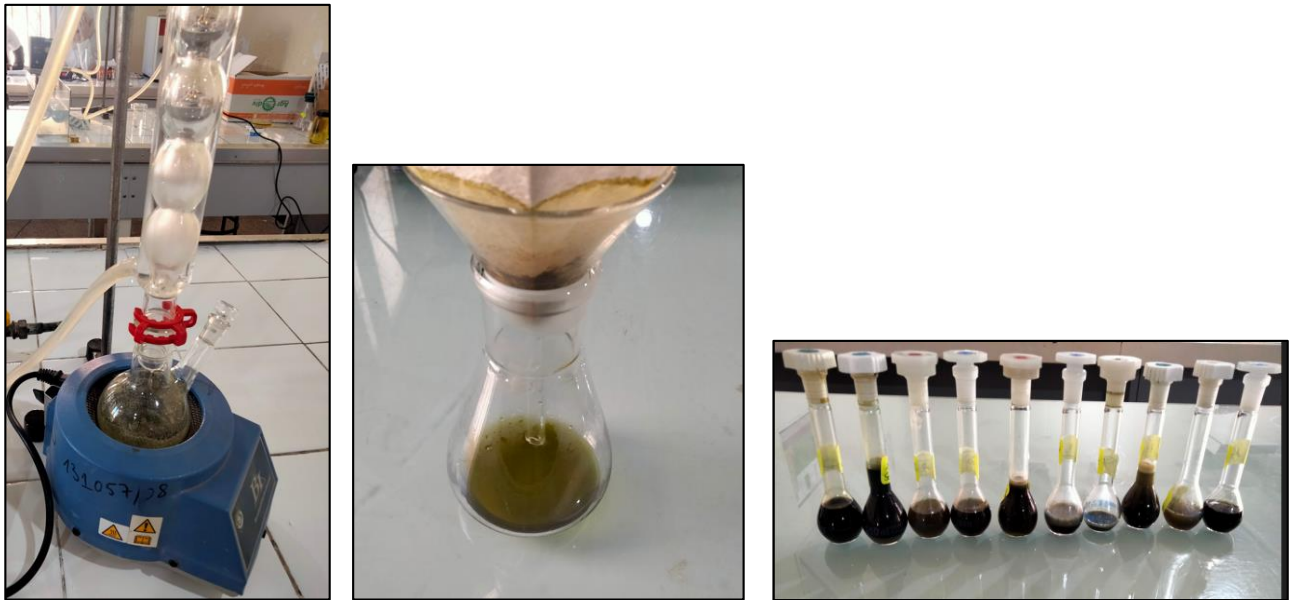


Figure2: préparation des extraits de montage a reflux.

b. Extraction par soxhlet :

On a pris 10g de échantillon placé dans une cartouche de cellulose puis dans le réservoir de soxhlet , On a rempli le ballon avec une quantité suffisante de solvant(éthanol) (prendre en compte la quantité qui sera piégée dans le réservoir en cours de manipulation) et surmonter l'extracteur d'un réfrigérant chauffé à température ambiante 55C°. Pour réaliser une extraction correcte d'une substance, on réalise généralement 6 cycles tels que décrit précédemment.

L'extrait est obtenu et évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température 38C°.



Figure 3 : préparations des extraits par soxhlet.

c. Extraction par macération :

2g de poudre ont été macéré dans 30ml d'éthanol à température ambiante pendant 24 heures, l'extrait obtenu est évaporé à l'aide d'un rotavape.

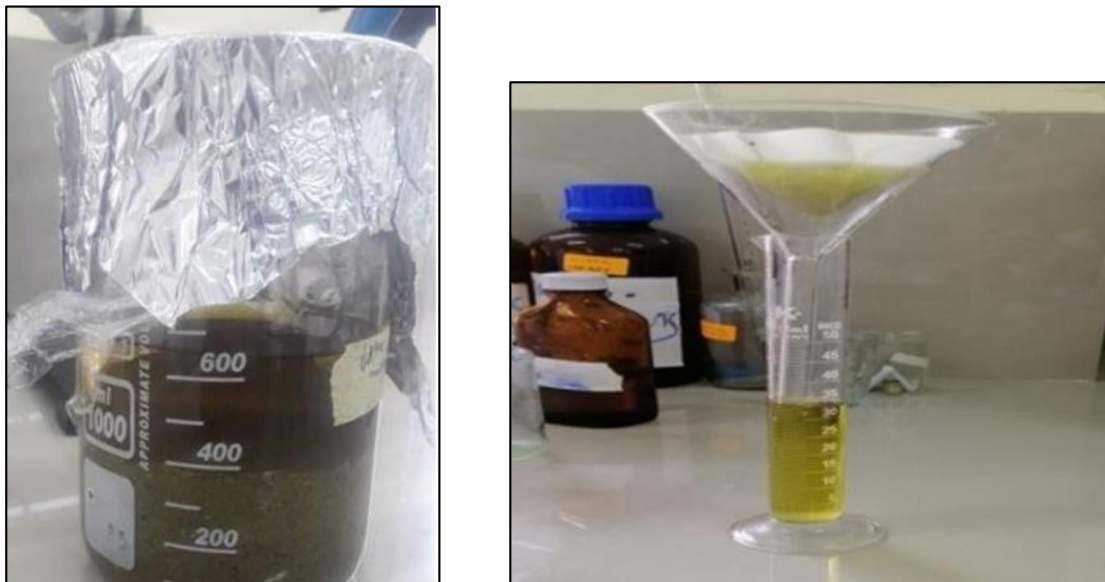


Figure 4: préparations des extraits de macération.

Le rendement moyen d'extraction classique d'échantillon est de 7,54%, c'est un rendement faible par rapport au rendement moyen d'extraction par Soxhlet 13,8 %. Donc cette faible valeur est probablement dû au solvant sélectif ou la totalité des constituants apolaires de la plante.

La macération n'a pas donné de bon rendement, la quantité obtenus sont quasi-nulles.

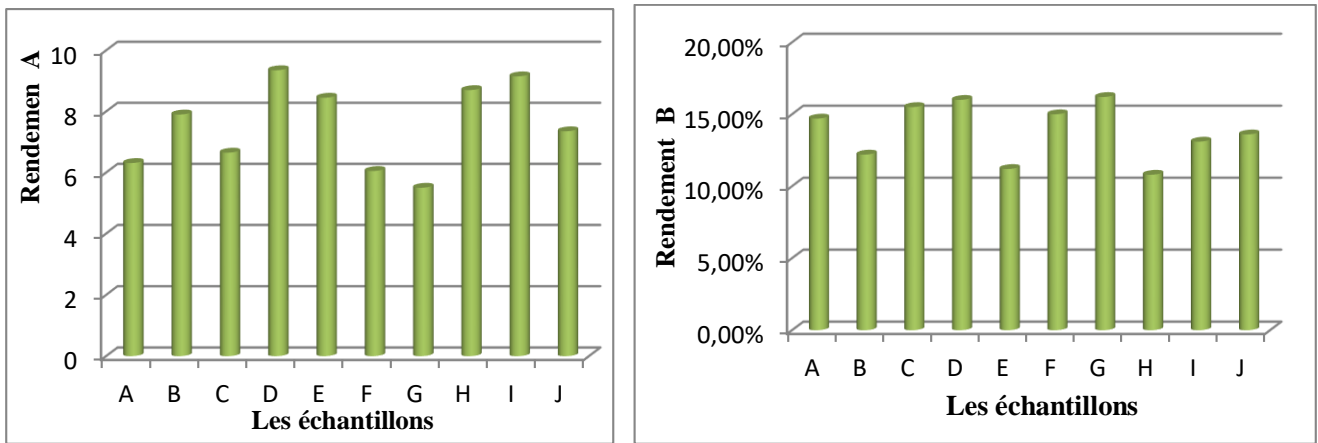


Figure 5 : Histogrammes des résultats du rendement des extractions

A: Extraction classique B: Extraction par soxhlet

II. Résultats et discussion :

a. Détermination du PH :

- Mode opératoire : [33]

La poudre de jujubier est mise dans un bécher à laquelle on a ajouté dix fois son volume d'eau distillée, le tout est mis au chauffage dans un bain-marie à 50°C pendant 30 min en remuant de temps en temps. On introduit l'électrode du pH mètre (électronique) dans la solution, en prenant soin que l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

- Résultat et Discussion des valeurs de pH :

La mesure des pH des échantillons de jujubier a permis de collecter les résultats notés dans la figure ci-dessous :

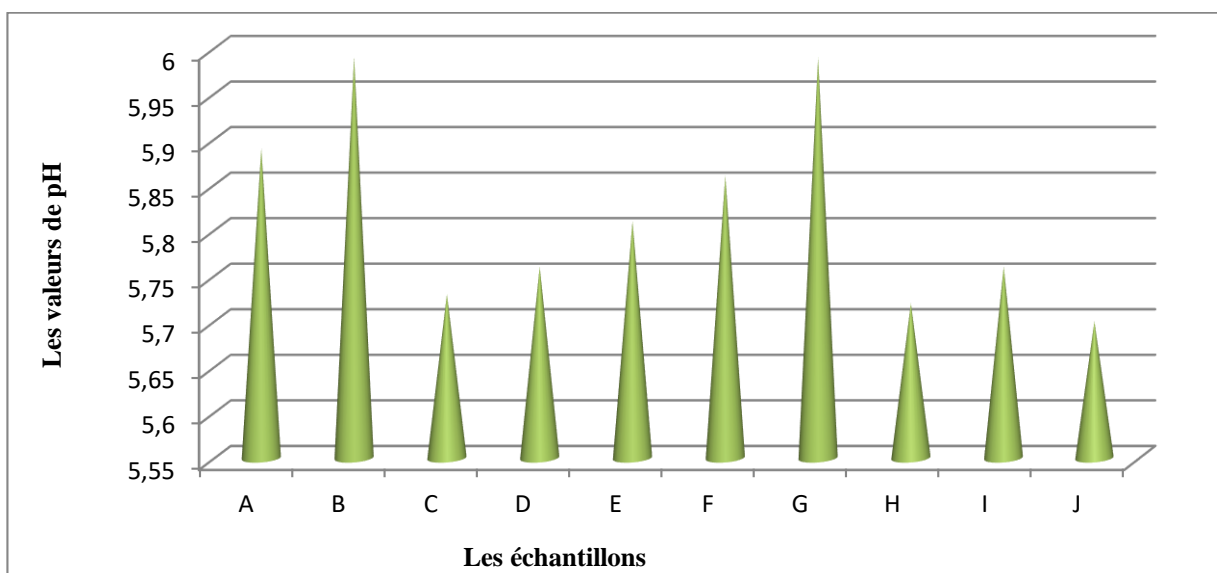


Figure 6 : variation du pH en fonction des échantillons.

Les résultats obtenus (figure5) montrent que la poudre des feuilles du jujubier (*Zizyphus jujuba*) analysé est légèrement acide avec une valeur de pH moyen de 5,77 .Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Z. Zhao et al. 2008) sur les feuilles de (*Zizyphus jujuba* Mill.) de Chine qui ont trouvé une valeur de pH 6,8, un pH de l'ordre de 3 à 6 est très favorable au développement des levures et moisissures (Amellal & Benamara, 2008).

b. Les Teneurs :

1) La teneur en eau :

➤ Mode opératoire : [33]

Dans des capsules vides séchées à l'étuve durant 15min à 103 °C, on a pesé dans chacune 5g de poudre de *Zizyphus jujuba*, on les a place dans l'étuve réglée à 100 °C pendant 3heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur en eau (TE) en pourcentage de matière humide est déterminée par la formule suivante :

$$TE\% = [(M_1 - M_2)/P] \times 100$$

Avec :

- M1 : masse de capsule + matière avant séchage
- M2 : masse de l'ensemble après séchage
- P : la masse de la prise d'essai
- La matière sèche MS est calculée par la formule suivante : $MS\% = 100 - TE$

➤ Résultat et Discussion sur la teneur en eau :

La teneur en eau est un facteur déterminant dans l'étude du jujubier.

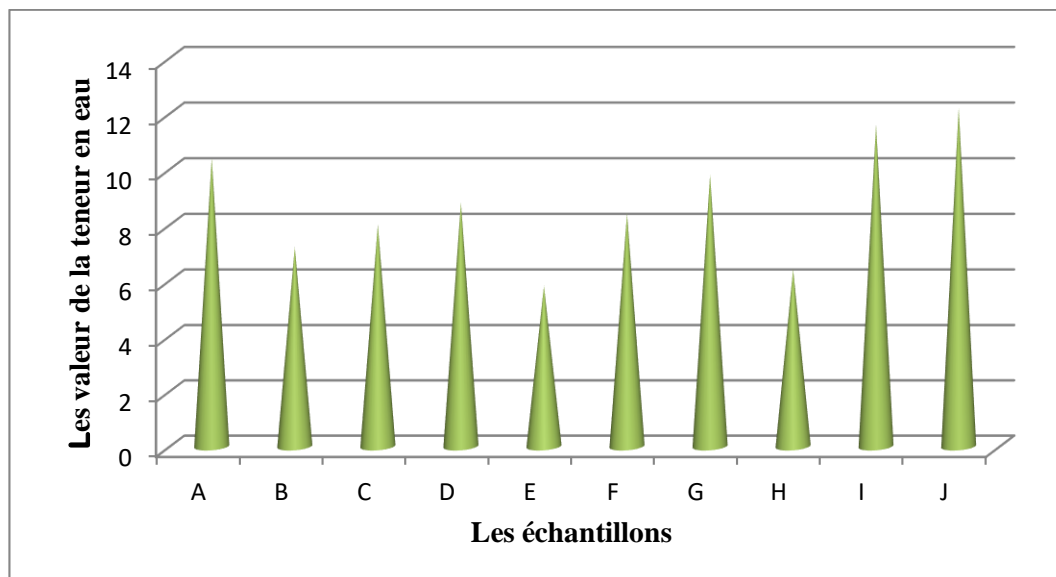


Figure 7 : Variation de la teneur en eau en fonction de la concentration.

Le test d'humidité permet de connaître la teneur en eau des feuilles jujubier (*Zizyphus jujuba*). Les résultats obtenus (figure 6) montrent que les feuilles du jujubier étudiées ont un taux d'humidité de l'ordre de 8,86%. Ce résultat est supérieur à celui rapporté par Renu et al. (2019) sur les feuilles de la variété Badara (*Zizyphus jujuba Lam.*) avec un taux d'humidité de 6,48%. Cela est probablement dû à des différences variétales et/ou à la région géographique ainsi qu'aux techniques de séchage appliquées.

2) La teneur en cendre :

➤ Mode opératoire : [33]

Un échantillon de 2 g de la poudre de jujubier séché et broyé est mis dans les capsules en porcelaines (M1), puis placées dans un four à moufle réglé à 550 °C, pendant 2h jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre, après refroidissement, les capsules (Mz) sont pesées.

La teneur en cendre (TC) est exprimée par la formule suivante : $MO\% = (M1 - Mz) / P * 100$

- MO : matière organique en %
- M1 : masse des capsules avec la prise d'essai
- Mz : masse des capsules avec cendres
- P : masse de la prise d'essai

La teneur en cendre (TC) est calculée comme suit : $TC = 100 - MO\%$

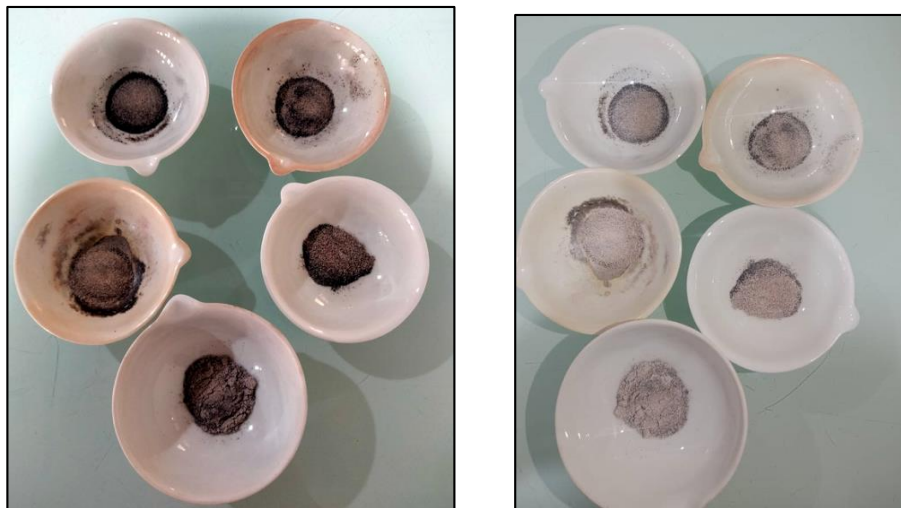


Figure 8: Résultats des teneurs en cendres de nos échantillons.

➤ Résultat et Discussion de la teneur en cendre :

Cette mesure permet de détecter la teneur en produits minéraux éventuellement présents dans la poudre de jujubier. Une poudre de jujubier naturelle ne présente pas un taux élevé de cendre.

Les résultats expérimentaux obtenus avec les échantillons de jujubier sont notés dans la figure ci-dessous :

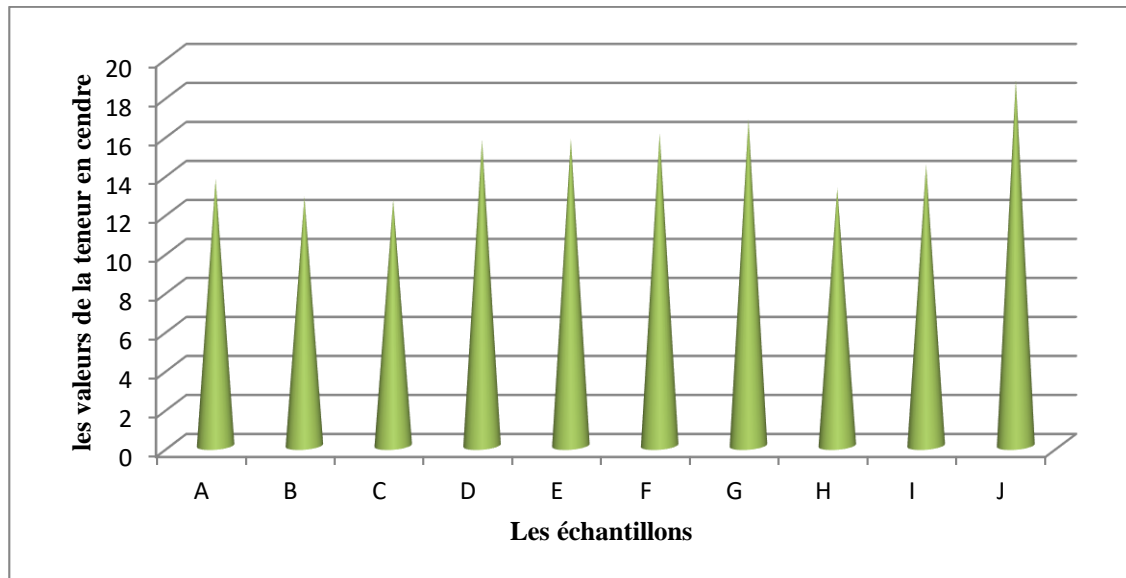


Figure 9: Variation de la teneur en cendre en fonction de la concentration.

La teneur en cendres est la quantité totale des sels minéraux présents dans le produit. Les résultats (figure 8) montrent que le taux de cendres de la poudre des feuilles de jujubier (*Zizyphus jujuba*) est de l'ordre de 14,95%. Renu et al. (2019) dans leur étude réalisée sur les feuilles de la variété Badara (*Zizyphus jujuba Lam.*) ont trouvé des valeurs similaires.

c. Les tests screening phytochimiques:

➤ Mode opératoire : [34]

a) Flavonoïdes :

Dans un tube, on a mélangé 10mg de poudre et 1ml d'éthanol puis ajouté 0.5 ml de HCL concentré. On ajoute tout doucement quelques fragments de magnésium, on laisse agir sous la hotte.

L'apparition d'une couleur qui vire vers le **rouge pourpre** (Flavonols), ou le **rouge violacé** (Flavonones et Flavonols) confirme l'existence des flavonoïdes.

b) Teste des sucres (Fehling) :

Dans un tube on met 10mg de la poudre et 1ml d'éthanol puis 1 ml de solution de Fehling (elle existe des ions Cu^{++} complexes par les ions tartrates un milieu basique), ensuite le tube à essai est placé dans un bain marie qui contient de l'eau bouillante pendant 8 minutes.

L'apparition d'un **précipité rouge brique** indique la présence des sucres.

c) Teste de saponosides : (la mousse)

Dans un tube on met une quantité de bicarbonate de sodium et de l'eau et on ajoute 10 mg de poudre, le mélange est ensuite agité.

La présence de saponosides se manifeste par l'apparition **d'une mousse** sous la forme d'alvéoles de miel stables.

d) Teste des terpènes :

Dans un tube on met 0,5 ml d'anhydride acétique puis 0.5 ml de chloroforme. Après dissolution, la solution est transférée dans un tube à essai auquel est ajouté 0.5 ml de HCL concentré. La réaction est effectuée à froid.

L'apparition, à l'interphase, **d'un anneau pourpre (rouge violacé) ou violet**, virant au **bleu** puis au **vert**, a indiqué une réaction positive (présence de terpènes).

e) Teste de phlorotanins :

Dans un tube on a mis 0.5 ml de HCL concentré et 10mg de poudre, et porté l'ensemble au bain marie pendant 30 minutes. L'apparition d'une coloration **rouge noir** indique la présence de phlorotanins.

f) Teste d'alcaloïdes :

On ajoute 5ml d'HCl 1% à 1ml de chaque extrait, le tout est chauffé au bain marie, et ensuite traité par le réactif de Wagner.

-Réactif de Wagner : dans 75ml d'eau distillée, on a dissous 2g de KI et 1,25g d'I₂. Le volume obtenu est ajusté à 100ml avec l'eau distillée.

La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

g) Teste de diterpènes :

Dans un tube on met 1ml d'eau distillée et 10 mg de l'extrait, puis 3 à 4 gouttes d'acétate de cuivre.

L'apparition de la **couleur émeraude verte** indique la présence de diterpènes.

h) Teste de stérols :

Dans un tube on met 1ml de chloroforme et 10 mg de l'extrait, puis 1ml de H₂SO₄ concentré. Le mélange est secoué puis laissé au repos quelques minutes.

L'apparition de la couleur **rougeâtre** dans la **couche chloroformique** indique la présence des **Stérols**.

i) Teste de tanins :

Dans un tube on a mélangé 4 à 5 gouttes de (FeCl₃ en solution méthanolique à 2 %) puis 10 mg de poudre et 1ml d'eau distillée.

La couleur **vire au bleu noir** en présence de **tannins galliques** et au **brun verdâtre** en présence de **tannins catéchiques**.

j) Teste des anthraquinones :

Dans le 1^{er} tube on a préparé la solution chloroforme/éther de pétrole dans les proportions (1 :1).



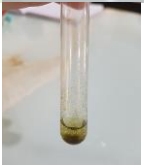





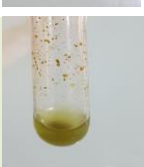

Dans le 2^{ème} tube on a additionné 1ml de la solution précédente puis 10 mg de poudre et quelques gouttes de NaOH sont ajoutées.

L'apparition d'une **couleur rouge indique** la présence des Anthraquinones.





➤ **Les résultats** : sont exprimée dans les tableaux suivants :







Tableau 4 : résultats des tests du screening phytochimique.

- Les flavonoïdes :





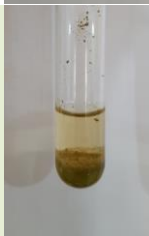





Les échantillons			Présence/absence
A			+
B			+
C			+
D			+
E			+

- Sucre :











Les échantillons			Présence/absence
A			++++ Précipitation
B			++++ Précipitation

C			++++ Précipitation
D			++++ Précipitation
E			++++ Précipitation






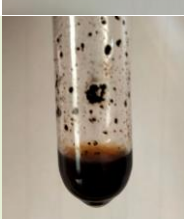
• Saponosides (la mousse) :


Les échantillons			Présence/absence
A			++++ Formation de mousse 1,6cm Dégagement de gaz
B			++++ Formation de mousse 0,9cm Dégagement de gaz
C			++++ Formation de mousse 1cm Dégagement de gaz
D			++++ Formation de mousse 1,2cm Dégagement de gaz
E			++++ Formation de mousse 1,5cm Dégagement de gaz

- Terpenes :










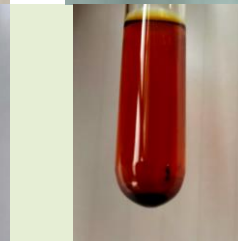
Les échantillons			Présence/absence
A			++++ Formation des anneaux
B			++++ Formation des anneaux
C			++++ Formation des anneaux
D			++++ Formation des anneaux
E			++++ Formation des anneaux

- Phlorobatanins :











Les échantillons			Présence/absence
A			++++ Changement de couleur (rouge noir)
B			++++ Changement de couleur (rouge noir)
C			++++ Changement de couleur (rouge noir)

D			++++ Changement de couleur (rouge noir)
E			++++ Changement de couleur (rouge noir)

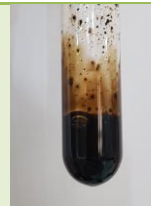



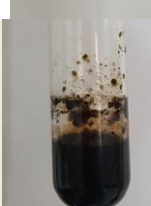
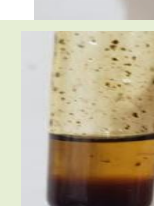
• Alcaloides :

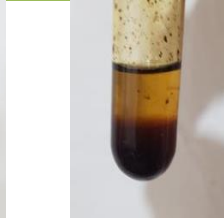
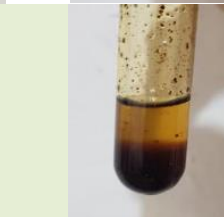
Les échantillons			Présence/absence
A			+++++ Changement de couleur vers le brun. Précipitation noire
B			+++++ Changement de couleur vers le brun. Précipitation noire
C			+++++ Changement de couleur vers le brun. Précipitation noire
D			+++++ Changement de couleur vers le brun. Précipitation noire
E			+++++ Changement de couleur vers le brun. Précipitation noire

- Diterpenes :


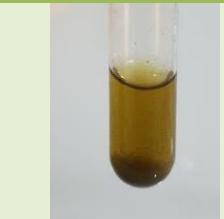








Les échantillons			Présence/absence
A			++++ Couleur émeraude verte
B			++++ Couleur émeraude verte
C			++++ Couleur émeraude verte
D			++++ Couleur émeraude verte
E			++++ Couleur émeraude verte

- Stérols :


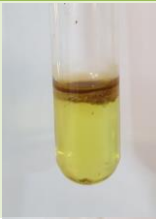





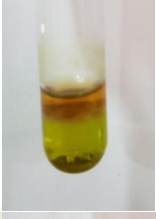


Les échantillons			Présence/absence
A			++++ Formation de couche chloroforme
B			++++ Formation de couche chloroforme
C			++++ Formation de couche chloroforme

D			++++ Formation de couche chloroforme
E			++++ Formation de couche chloroforme

• Tanins :

Les échantillons			Présence/absence
A			++++ Couleur brun verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques
B			++++ Couleur brun verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques
C			++++ Couleur brun verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques
D			++++ Couleur brun verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques
E			++++ Couleur brun verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques

- Anthraquinones :

Les échantillons			Présence/absence
A			+++++
B			+++++
C			+++++
D			+++++
E			+++++

➤ Discussion :

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisés sur l'extrait de la plante.

Les tests du screening phytochimiques font ressortir les résultats suivants :

- ✓ Les résultats de flavonoïdes ne peut être confirme dans le cas de cette analyse, la couleur de la plante étant sombre.
- ✓ La présence des sucres, saponines, terpènes, phlorotanins, alcaloïdes et diterpènes.
- ✓ La présence de tannins catéchiques et l'absence de tannins galliques.
- ✓ La présence d'anthraquinones car le chloroforme est coloré en orangé, c'est probablement dû au mélange du jaune de la solution avec le rouge du virage.

d. Les indices:

1. Indices d'acide (IA) :

- Mode opératoire : [35]

- On prélève 10ml de l'extraits (soxhlet) jujubier, et on l'introduit dans un ballon en verre.
- On ajoute 5 ml d'éthanol à 96% et 5 gouttes de phénophtaléine (PP) à 0,2%
- On neutralise en ajoutant grâce à une burette la solution éthanolique de KOH (0,1 mol/l) jusqu'au changement de couleur.
- On note le volume de la solution éthanolique de KOH ajoutée.

Le calcul de l'IA est donne par la formule :

$$IA = 5,61 \times V/m$$


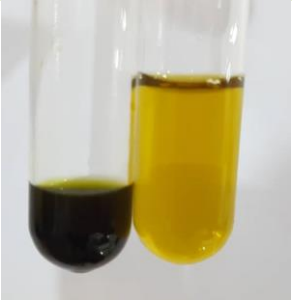

Avec: la valeur 5,61 qui correspond à 0,1 mol/l de KOH.

V : Volume en ml de la solution éthanolique de KOH (0,1 mol/l) utilisée pour le titrage.

m : masse en g d'extrait (par soxhlet) de *Zizyphus*.

➤ Résultats :

Tableau 5 : résultats de l'indice d'acide.

Les echantillons		Valeur de l'indice
B		V=1,4 $I_a=4,21$
I		V=2,1 $I_a = 5,89$
G		V=1,3 $I_a = 3,64$

D



$V=1,4$
 $I_a = 4,21$

C



$V=1,7$
 $I_a = 4,77$

2. Indice de peroxyde (IP) :

➤ Mode opératoire : [35]

- On mesure 1ml de l'extrait (soxhlet) jujubier avec un micro tube, on verse son contenu dans un Erlenmeyer, on ajoute 1 ml de chloroforme et on agite.
- On ajoute 1,5 ml d'acide acétique CH_3COOH , puis 1 ml de la solution aqueuse saturée de KI, on bouche aussitôt, on agite et on laisse le flacon pendant 5 min à l'abri de la lumière. On Ajoute 7,5 ml d'eau distillée.
- On fait la titration soigneusement en présence d'empois d'amidon, l'iode est libéré avec la solution $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,01N) jusqu'à décoloration totale de la solution.
- Faire un essai à blanc dans les mêmes conditions.

Le calcul de l'IP est donné par la formule :

$$\text{IP} = (V_{\text{sol}} - V_B) \times 1000/m$$

Avec :











m : est la masse en kilogramme de la prise d'essais.

V_{sol} : est le volume de la solution de thiosulfate versée.

V_B : Est le volume de blanc.

➤ **Résultats :**

Tableau 6 : résultats de l'indice de peroxyde.

Les échantillons			La valeur de l'indice
B			V=3,1 $I_p = 23 \text{ meq/kg}$
I			V=2,9 $I_p = 21 \text{ meq/kg}$
G			V=4 $I_p = 32 \text{ meq/kg}$
D			V=3,9 $I_p = 31 \text{ meq/kg}$
C			V=3,5ml $I_p = 27 \text{ meq/kg}$

3. Indice de saponification :

➤ Mode opératoire : [35]

- Peser 2g d'huile et les introduire dans un ballon à col rodé ;
- Ajouter 25ml de potasse alcoolique (KOH) à 0.5N ;
- Porter à ébullition sous réfrigérant à reflux (avec un régulateur d'ébullition), pendant une heure, en agitant de temps en temps ;
- Titrer l'excès d'alcalis de KOH avec l'acide chlorhydrique 0.5N en présence de phénolphtaléine jusqu'à la décoloration.
- Faire un essai à blanc dans les mêmes conditions.

$$I_S = \frac{(V_T - V_E) * c * 56,1}{m}$$

Avec : I_S : indice de saponification.

V_T : volume versé au témoin en L.

V_E : volume versé à l'essai, en L.

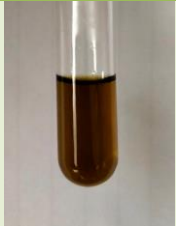




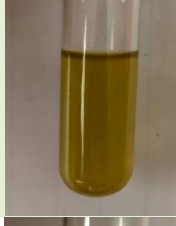

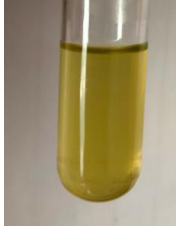


C : concentration de la solution titrée d'acide chlorhydrique, en mol/L.

56,1 : (g/mol) masse molaire de KOH.

m : masse de corps gras analysée, en g.

➤ **Résultats :**

Tableau 7 : résultats de l'indice de saponification.

Les échantillons			La valeur de l'indice
B			$V=5,8$ $I_S = 140,25$
I			$V=5,6$ $I_S = 134,64$
J			$V=7,8$ $I_S = 196,35$
D			$V=7,5$ $I_S = 187,94$
C			$V=6,6$ $I_S = 162,69$

4. Indice d'ester (IE) :

➤ Mode opératoire [35]

- On introduit dans un ballon de 100 ml, 1g d'H.E et 25mL d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5 M à l'aide d'une burette, ainsi que quelques pierres ponce.
- L'ensemble est porté à reflux pendant 1h. Après refroidissement de la solution, on ajoute 20ml d'eau distillée et 5 gouttes de phénolphtaléine.
- Après refroidissement de la solution, on ajoute 20ml d'eau distillée et quelques gouttes de phénolphthaléine, l'excès de KOH est titré avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 0,5N jusqu'à la disparition de la couleur rose.
- Faire un essai à blanc dans les mêmes conditions.

Le calcul de l'IE est donné par la formule :

$$IE = (28,05 \times (V_0 - V_1) / m) - IA$$

Avec : 28,05 g/l correspondant à 0,5 mol/l de KOH.

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

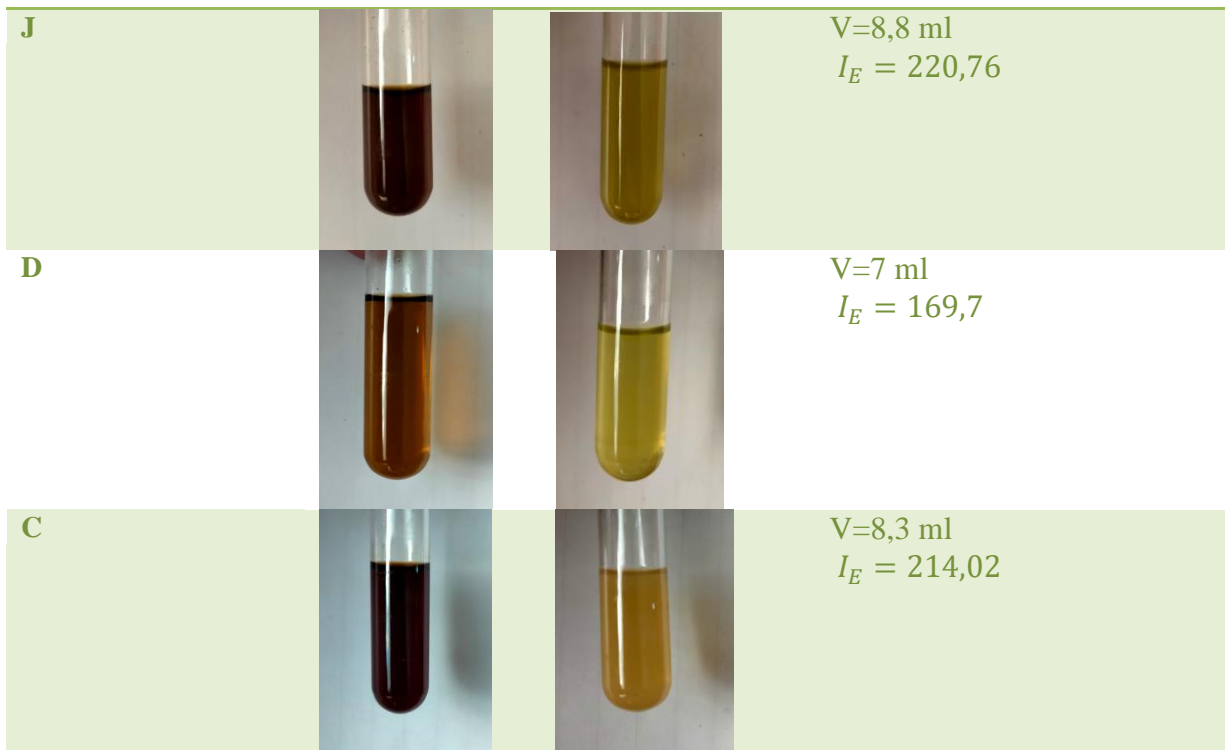
V₀ : Volume en ml de la solution HCl (0,5 mol/l) utilisé pour l'essai à blanc.

V₁ : Volume en ml de la solution HCl (0,5 mol/l) utilisé pour la détermination de l'IE de l'extrait (soxhlet) fixe.

➤ Résultats :

Tableau 8: résultats de l'indice d'ester.

Les échantillons			La valeur de l'indice
B			V=7,5 ml I _E = 183,73
I			V=9 ml I _E = 224,12



5. Indice d'iode (Ii) :

➤ Mode opératoire : [35]

- On introduit 10ml d'extraits, 10ml de tétrachlorure de carbone (CCl₄) et 12.5ml d'une solution d'iode (1N) sont mis dans un erlenmeyer.
- le mélange est laissé à l'abri de la lumière pendant 2h. Au terme de cette durée, 10 ml d'une solution d'iodure de potassium (KI) à 50% et 20ml d'eau distillée sont ajoutés.
- L'excès d'iode est titré par une solution de thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) 0,1 N, en présence d'empois d'amidon jusqu'à la décoloration totale.
- Dans les mêmes conditions que précédemment, un essai à blanc est réalisé.

Le calcul de l'Ii est donné par la formule :

$$Ii = 12,69 C (V1-V2) / M$$

Avec : C : concentration en mole par litre de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.











M : est la masse en gramme de la prise d'essais.

V1 : est le volume de la solution de thiosulfate N/10 du témoin.

V2: est le volume de la solution de thiosulfate N/10 de l'échantillon.

➤ **Résultats :**

Tableau 9: résultats de l'indice d'iode.

Les échantillons			
B			V=4,2 $I_d = 4,31$
I			V=3,9 $I_d = 3,93$
G			V=4 $I_d = 4,06$
D			V=4,5 $I_d = 4,70$
C			V=5,5 $I_d = 5,96$

➤ **Discussion :**

- La valeur de l'indice d'acide ($I_d=4,54$) est inférieure à la valeur limite indiquée dans la littérature : <20 [36].
- La valeur de l'indice de peroxyde ($IP=26,8$) révèle très bien la fraîcheur de notre extrait et les meilleurs conditions de sa conservation. (<80).
- La détermination de l'indice de saponification donne une valeur ($IS=164,32$) qui est plus proche de celle de (HAMIA (2007) /184,4).
- La détermination de l'indice d'iode a donné une valeur égale à ($I_d=4,59$). Cette dernière est très inférieure à celle trouvée par (HAMIA (2007)/132.36), L'indice d'iode étant un critère de pureté ; il renseigne sur la présence d'insaturations des corps gras. Dans ce cas l'indice d'iode étant très faible ; cela veut dire qu'il y a très peu d'insaturations.

- La valeur de l'indice d'ester (IE= 202,47) est un peu élevée par rapport à la norme donnée par le codex alimentaire (2009) en l'occurrence (186 -194).

e. La chromatographie sur couche mince :

➤ Mode opératoire :

- Dans la cuve à chromatographie, placer le mélange d'éluant (éthanol/ eau) dans les proportions (60/40) sur une hauteur d'environ 1/2 cm. Refermer la cuve.
- Préparer la plaque de chromatographie (ligne de départ, emplacement des taches).
- Sur la plaque de chromatographie, en utilisant un tube capillaire à chaque prélèvement, déposer une quantité de chaque extrait.
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant l'éluant et laisser l'élution se produire pendant une dizaine de minutes, le front de l'éluant doit monter à environ 1 cm du haut de la plaque.
- Une fois l'élution terminée, noter le niveau atteint par le solvant.
- observer la tâche avec la lampe UV.
- Repérer les tâches obtenues et mesurer les R_f .

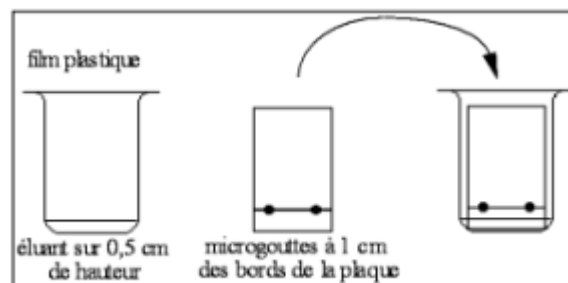


Figure 10 : préparation de la Chromatographie sur couche mince(CCM).

➤ Résultats :

Tableau 10 : les valeurs des rapports frontaux des deux extractions.

Les échantillons	Rf d'extrait classique	Rf d'extrait de soxhlet
A	0,46	0,56
B	0,36	0,70
C	0,44	0,64
D	0,28	0,60
E	0,20	0,50
F	0,24	0,52
G	0,28	0,76
H	0,30	0,45
I	0,28	0,60
J	0,39	0,46

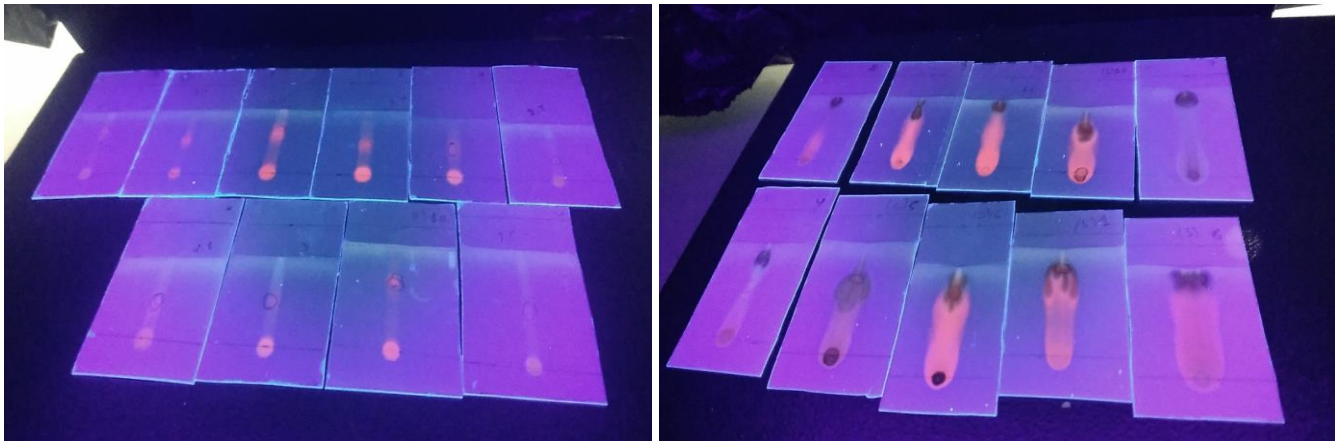


Figure11 : chromatographie sur couche mince.

➤ Discussion :

La mesure des rapports frontaux de chacune des taches révèle la présence d'un composé correspondant à la chlorophylle (RF moy =0.32 pour l'extraction classique et RFmoy =0,58 pour l'extraction par soxhlet), ceci est confirmé par la couleur verte. Les différences observées sont certainement dû au type d'extraction et a l'origine de l'échantillon.

f. L'activité anti-oxydante :

➤ Mode opératoire : [37]

a. préparation de la solution de DPPH :

Dans une fiole 100ml on dissout 6mg de DPPH, on ajoute (2/3) d'éthanol et on agite bien jusqu'à dissolution totale de DPPH ,puis on ajuste la solution jusqu'au trait de jauge ,on agite à température ambiante pendant 15 minutes A l'aide d'un spectrophotomètre, on mesure l'absorbance de la solution de DPPH ,cette dernière doit être entre 0,5 et 0,8 à 517nm.

b. préparation de la solution mère :

Dans un tube, on mélange 1,5ml d'éthanol avec 1,5ml d'extrait (soxhlet) de *Zizyphus jujube* (50%/50%).

c. préparation des solutions filles :

Pour cela, on a préparé des solutions diluées (filles) à partir de la solution mère à différentes concentration (6,25/12,5/25/50 et 100%) et on complète avec l'éthanol.

d. l'ajout du DPPH :

A partir des solutions filles préparées, on a pris 0,4ml de chaque solution et on ajoute 1,6ml de DPPH.

- l'activité anti-radicalaire des différents extrait est évaluée par leur activité inhibitrice, mesurée à 517 nm et le standard utilise c'est l'acide ascorbique.

- Le degré de décoloration indique un potentiel d'élimination des radicaux libres de l'échantillon. C'est-à-dire, une activité antioxydant est présente.
- l'activité anti-oxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Le pourcentage d'Inhibition est exprimé par la suite par la détermination de l'IC50, qui est connue comme la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de réduction du DPPH.

➤ Résultats :

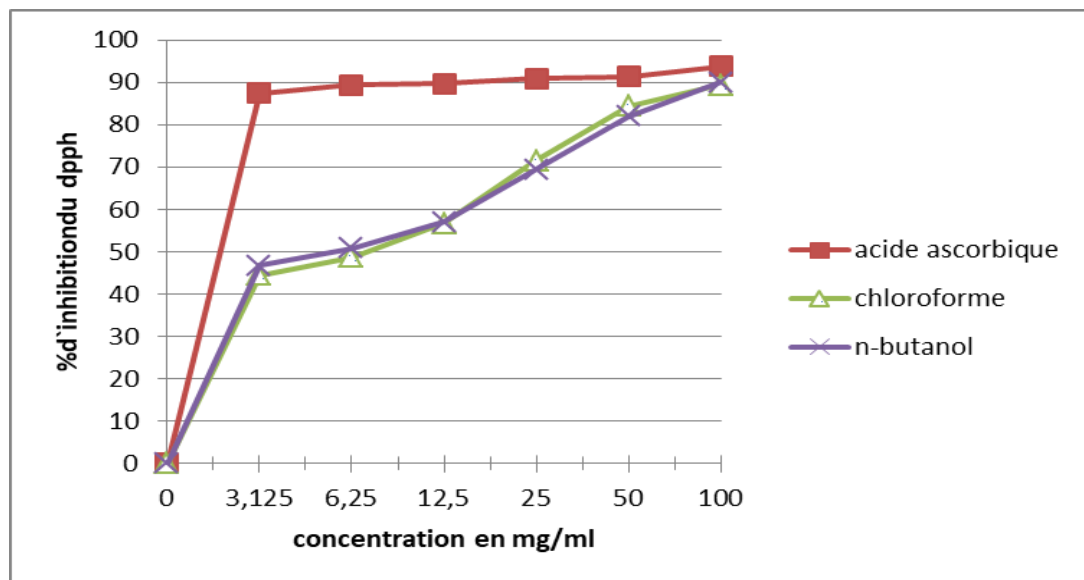


Figure 12 : la courbe de pourcentage d'inhibition de DPPH standard (Acide ascorbique/n-butanol-chloroforme)

Tableau 11: Les résultats pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de concentration des différents échantillons.

Concentration	% d'inhibition de DPPH				
	L'échantillon B	L'échantillon D	L'échantillon I	L'échantillon J	L'échantillon G
100	19,86	22,86	3,57	5,43	41,14
50	36,714	39,14	65	21,14	48,57
25	46,286	42,29	79,86	22,71	70,71
12,5	59,871	49,71	80,57	45,57	79,14
6,25	85,74	90,43	89,57	74,56	85,86
3,125	97,04	96,98	93,75	81,37	89,61

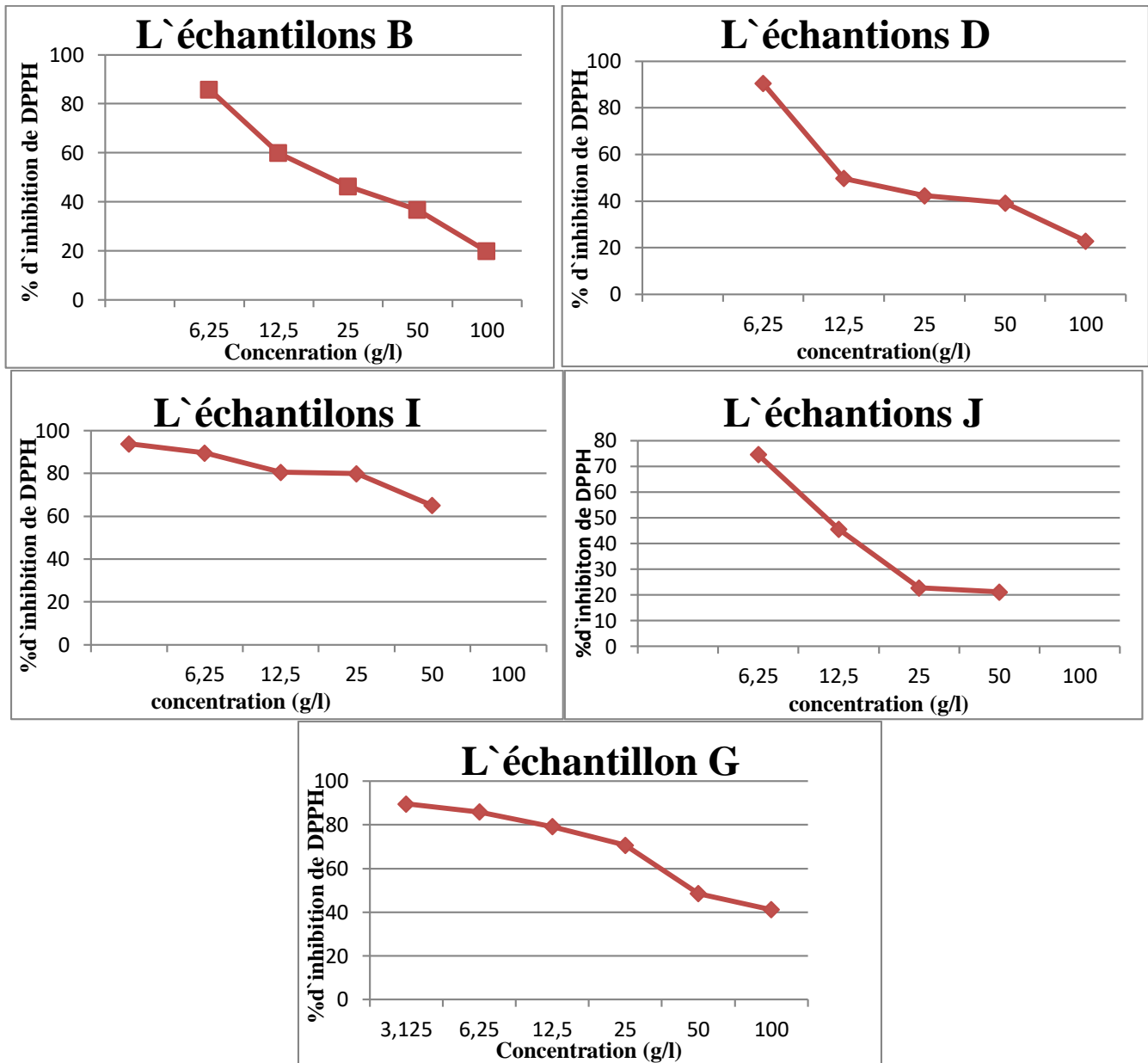


Figure13 : les courbes des pourcentages d'inhibitions de DPPH de différentes échantillons.

Tableau 12 : les résultats de l'absorbance de DPPH en fonction de concentration des différents échantillons.

Concentration	L'absorbance				
	L'échantillon B	L'échantillon D	L'échantillon I	L'échantillon J	L'échantillon G
100	0,561	0,540	0,675	0,662	0,412
50	0,443	0,426	0,245	0,552	0,36
25	0,376	0,404	0,141	0,541	0,205
12,5	0,284	0,352	0,136	0,318	0,146
6,25	0,090	0,067	0,073	0,178	0,099
3,125	0,0207	0,0211	0,043	0,130	0,072

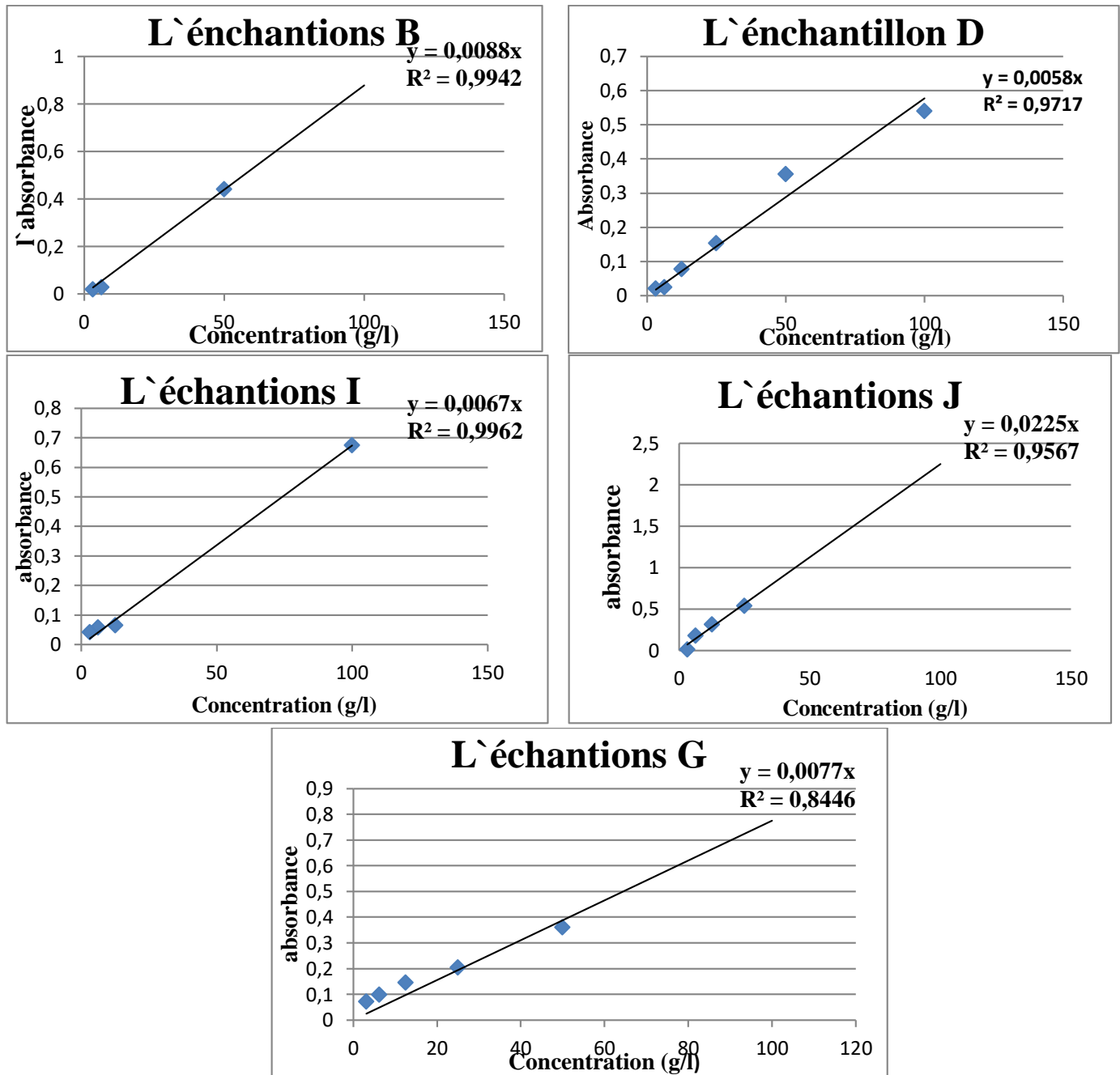


Figure14 : les courbes d'étalonnages de différents échantillons.

Détermination de l'IC50 :

Le paramètre **IC50** est défini comme étant la concentration du substrat qui entraîne une perte de 50% de l'activité. La valeur de l'IC50 est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante. Plus la valeur de l'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante de l'échantillon testé est élevée.

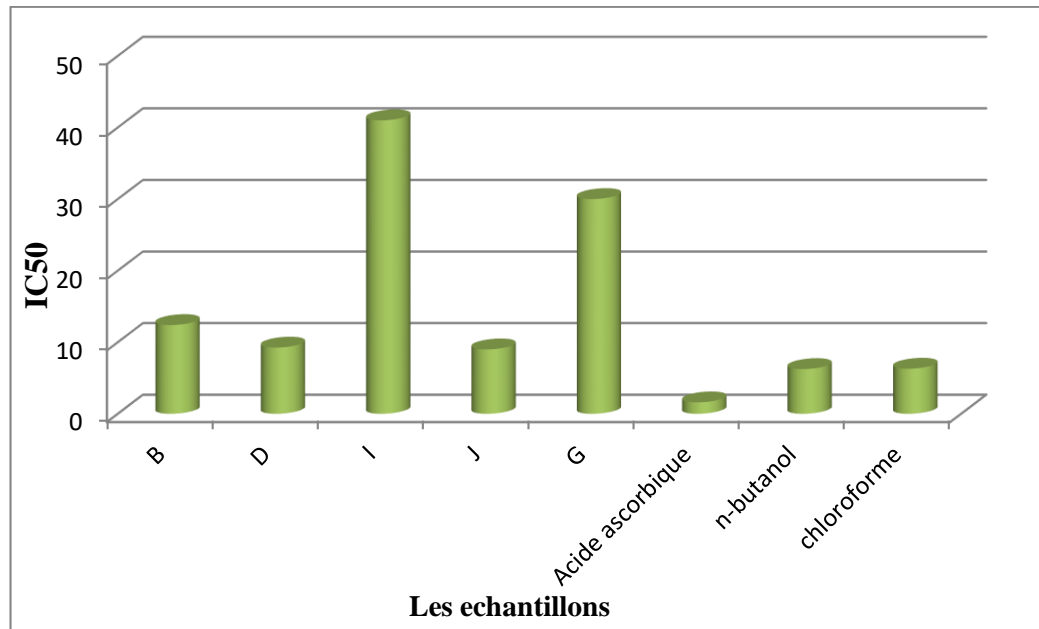


Figure15: Histogramme d'IC50.

➤ Discussion :

A partir des courbes obtenues, nous constatons que le pourcentage d'inhibition diminue avec l'augmentation de la concentration pour chacune des plantes.

L'efficacité antioxydant des différents extraits a été déterminée à partir de la concentration IC50.

D'après les valeurs de IC50 le classement de l'efficacité des extraits est le suivant :

Le pouvoir antioxydant de nos échantillons a été évalué par la méthode qui est le piégeage du radical libre DPPH afin de classer et sélectionner les échantillons les plus actifs. Il s'est avéré que les échantillons J et D présentent une activité importante avec une valeur IC50 9 et 9,25 mg/ml, par rapport aux échantillons I et G qui présentent une faible activité de valeur IC50 environ 50 mg/ml et l'échantillon B de valeur IC50 12mg/ml.

Cette activité est en corrélation avec les teneurs en composés phénoliques. Ces derniers peuvent être responsables de l'activité antioxydante et ont la capacité d'attirer un proton pour réduire le DPPH.

D'après ces résultats, en comparant les valeurs de IC50, on constate que l'extrait de *Zizyphus* a présenté une activité antioxydante puissante par rapport au standard d'acide ascorbique (IC50=1,7mg/ml), chloroforme (IC50=7,5mg/ml), n-butanol (IC50=4,8mg/ml).

Dosage avec la solution de DPPH :

➤ Mode opératoire :

Dans un bécher on met 2g de poudre de jujubier avec 60ml d'eau distillée, le tout est mis dans un agitateur pendant 30min. Après on laisse reposer et on filtre.

Ensuite on prélève à l'aide d'une éprouvette 20ml de filtrat et on fait dilution successive 10 fois.

Après nous prélevons 3ml de chaque solution diluées et on dose avec la solution de DPPH qui a déjà été préparée jusqu'à la décoloration complète. On note le volume de DPPH versé.

➤ Résultats :

Tableau 13: Volume de DPPH versé en fonction de la concentration de 3 échantillons.

Volume de DPPH versé (ml)	Le volume (ml)							
	SM	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
échantillon B	5	4,7	2	2,4	0,9	1,6	2,1	1,5
échantillon D	5,6	4,4	4,6	4	1,1	2,4	1,4	0,7
échantillon J	1,1	1,4	1,9	2,7	3,2	3,9	4,5	5

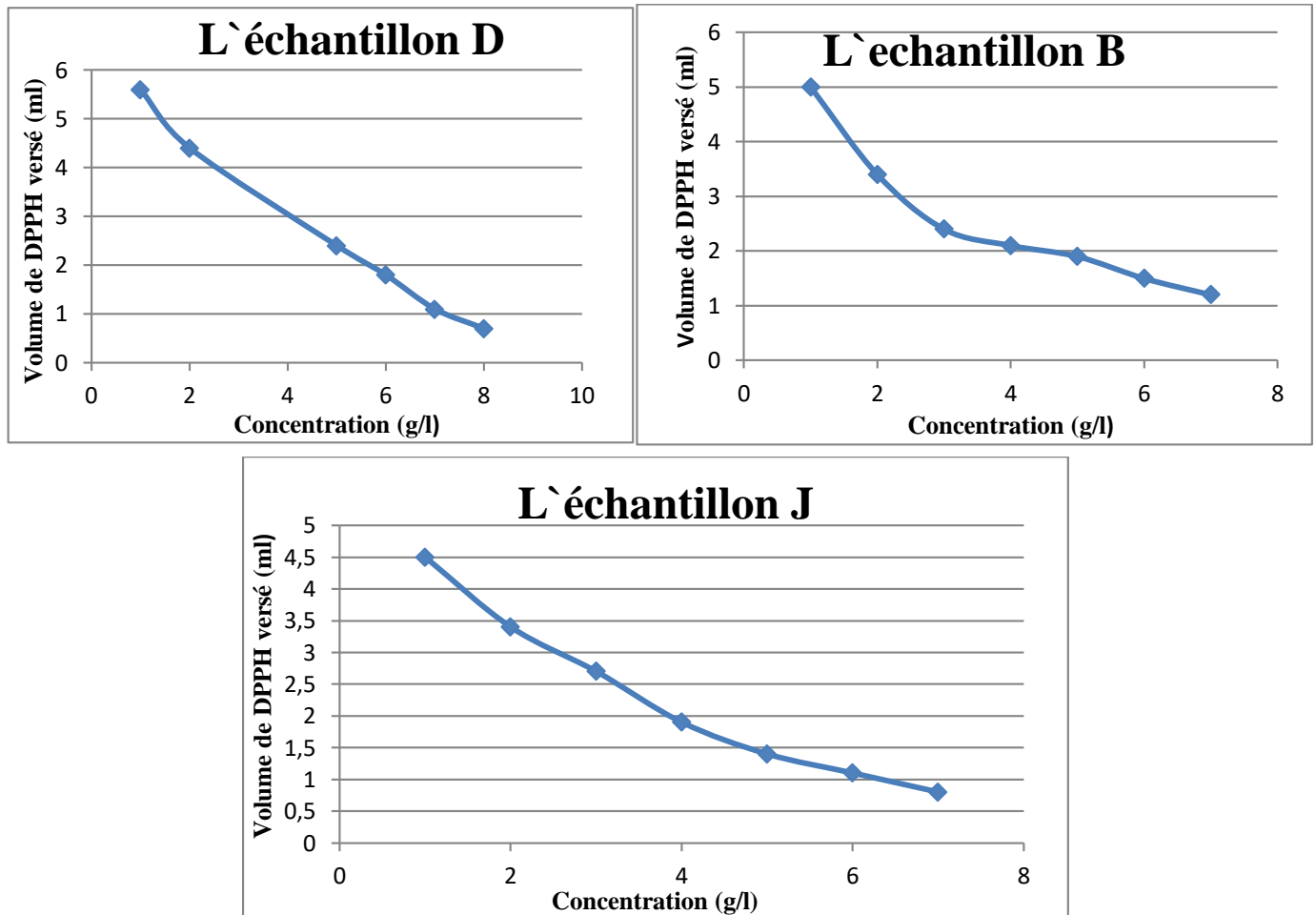


Figure 16 : Le volume de DPPH versée en fonction de concentration.

g. L`analyse microbiologique : [32]

Préparation de la suspension mère :

Peser aseptiquement 25 gr de la poudre sèche (*Zizyphus*) ; rajouter 225 ml de TSE. On obtient une suspension mère au 1/10.

1. Dénombrement des micro-organismes a 30°C :

➤ Mode opératoire :

Dilution successive :

Dans un environnement stérile, prélever 1 ml de la suspension mère avec une pipette graduée et transférer dans un tube contenant 9 ml de diluant TSE pour atteindre une dilution de 1/100.

Le processus est répété, comme changer la pipette et injecter un autre ml dans un nouveau tube TSE, jusqu'à ce que la concentration bactérienne soit relativement faible. Les tubes sont homogénéisés entre chaque dilution et 1 millilitre de la solution finale est jeté pour assurer l'homogénéité statique entre les tubes.

Prenez une nouvelle pipette et prélevez 1 ml de dilution de la dernière dilution et versez goutte à goutte sur le fond de la boîte correspondante. Ce processus est répété pour la deuxième boîte. Revenir à des dilutions supérieures, jusqu'à la première dilution, sans changer de pipette. La gouttelette est ensuite recouverte d'une couche de gélose PCA surfondue et homogénéisée avec des mouvements circulaires. Assurez-vous que la gélose n'est pas trop chaude car cela tuerait les bactéries.

Une fois la gélose refroidie, placez-la sur une deuxième couche de gélose blanche ou PCA. Cela immobilise les bactéries et forme des colonies distinctes. Incuber à 30°C pendant 72 heures. Les mesures sont prises toutes les 24 heures.

2. Recherche des coliformes thermo tolérants à 44 °C:

➤ Mode opératoire :

Effectuez une dilution de 10 fois en utilisant une technique stérile.

Etiqueter les tubes avec les dilutions (10-1, 10-2, ...). Prélever aseptiquement 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette. Transférer le 1 ml collecté dans le premier tube (10-1), en s'assurant que la pipette ne pénètre pas dans les 9 ml de diluant (TSE).

Répéter avec une deuxième pipette du tube 10-1 au tube 10-2. Faites de même pour les autres tubes en utilisant une nouvelle pipette pour chaque échantillon. Transférer 1 ml de la suspension mère à analyser et ses dilutions décimales dans une boîte de Pétri stérile, ajouter l'inoculum goutte à goutte, et Verser 12 ml de milieu refroidi à 44-47 °C, bien homogénéiser et laisser sur une surface froide jusqu'à ce qu'il soit solide.

Ajouter encore 4 ml de gélose moyenne ou blanche pour former une deuxième couche et laisser solidifier. Incuber à 44°C pendant 18-24 heures.

3. Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

➤ Mode opératoire :

En milieu aseptique, 1 millilitre de suspension mère est prélevé à l'aide d'une pipette graduée et transféré dans un tube contenant 9 ml de diluant TSE (Tryptone sel eau) pour obtenir une dilution au 1/100 du produit.

Si nécessaire, répétez ce processus pour obtenir des taux de dilution plus élevés. Changer la pipette pour chaque concentration de bactéries. Les tubes sont homogénéisés entre chaque dilution et 1 millilitre de la solution finale est jeté pour assurer l'homogénéité statique entre les tubes.

Préparez deux boîtes de Pétri. A l'aide d'une pipette graduée stérile, transférer 1 ml des dilutions 10⁻² et 10⁻¹ dans chacune de ces boîtes. Répétez le processus en utilisant la même pipette, et transférer toujours 1 ml dans d'autres boîtes avec la suspension mère.

Répartir l'inoculum goutte à goutte au fond d'une boîte adaptée.

Les gouttelettes sont ensuite recouvertes d'une couche de gélose Sabouraud au chloramphénicol surfondue et homogénéisées avec des mouvements circulaires. Assurez-vous que la gélose n'est pas trop chaude car cela tuerait les bactéries. Une fois la gélose refroidie, étalez dessus une deuxième couche de gélose blanche ou de gélose Sabouraud au chloramphénicol. Cela a pour effet de fixer les bactéries et de former des colonies distinctes. Incuber à 25°C pendant 72 heures.

4. Recherche et dénombrement des clostridium sulfite réducteur a 46°C

➤ Mode opératoire :

Pour réaliser cette méthode générale par incorporation en gélose en tubes profonds ; on suit la technique suivante :

Chauffer le produit à tester (80°C pendant 10 minutes) pour détruire les formes végétatives et activer les spores. Refroidir immédiatement avec de l'eau du robinet.

Transférer 1 ml d'inoculum (10⁻¹ et 10⁻²) dans un tube stérile, en évitant autant que possible l'air.

Utiliser deux tubes pour chaque dilution.

Liquéfier le milieu dans un bain-marie moussieux et refroidir à 45-47 °C.

Ajouter environ 15 ml de gélose au foie de viande complétée par un flacon de 5 ml de sulfite de sodium et un flacon de 2 ml d'alun de fer.

Atteint une homogénéisation complète en évitant autant que possible la contamination de l'air et en inversant.

5. Recherche des salmonella:

➤ Mode opératoire :

Prélever aseptiquement 25 g du produit à analyser et introduire dans 225 ml d'Eau Peptonée Tamponnée.

Incuber le bouillon 18h à 37°. Mélanger au vortex ou remettre en suspension le bouillon de pré enrichissement.

Transférer 0,1 ml de ce bouillon dans 10 ml de milieu Rappaport Vassiliadis et 2 ml dans 20 ml de milieu Sélénite Cystine.

Incuber les bouillons de Rappaport Vassiliadis 24 h à 42°C et de Sélénite Cystine 24h à 37°C.

Ne pas dépasser une durée d'incubation de 24 heures en raison de la diminution de l'effet inhibiteur après les 12 premières heures, les salmonelles étant rapidement détruites au-delà de cette durée lorsqu'elles se trouvent en présence de puissants compétiteurs comme les Proteus.

Isolement sur gélose sélective

Ensemencer en stries les bouillons d'enrichissement sur des géloses sélectives et différentielles pour isoler les salmonelles. On utilise comme milieu la gélose hektoen et la gélose au Vert Brillant et au Rouge de Phénol (figure 4).

➤ **Résultats :**

Tableau 14 : les résultats des analyses microbiologiques.

Denrée alimentaire à analyser : POUDRE SÈCHE	N° d'ordre : D
---	----------------

MICRO- ORGANISMES	RESULTATS	Limite microbiologique (ufc /g ou ufc /ml)
* <i>Germes aérobies à 30°C</i>	Absence	10⁴
* Anaérobies sulfito-réducteurs	Absence	10
* Moisissures	90	10³
* Salmonella	Absence	Absence dans 25 gr
*COLIFORMES THERMOTOLÉRANTS	Absence	10

Denrée alimentaire à analyser : POUDRE SÈCHE	N° d'ordre : F
---	----------------

MICRO- ORGANISMES	RESULTATS	Limite microbiologique (ufc /g ou ufc /ml)
* <i>Germes aérobies à 30°C</i>	Absence	10⁴
* Anaérobies sulfito-réducteurs	Absence	10
* Moisissures	136	10³
* Salmonella	Absence	Absence dans 25 gr
*COLIFORMES THERMOTOLÉRANTS	Absence	10

Denrée alimentaire à analyser : POUDRE SÈCHE	N° d'ordre : G
---	----------------

MICRO- ORGANISMES	RESULTATS	Limite microbiologique (ufc /g ou ufc /ml)
-------------------	-----------	---

* <i>Germes aérobies à 30°C</i>	Absence	10⁴
* Anaérobies sulfito-réducteurs	Absence	10
* Moisissures	136	10³
* Salmonella	Absence	Absence dans 25 gr
*COLIFORMES THERMOTOLÉRANTS	Absence	10

Denrée alimentaire à analyser : **POUDRE SÈCHE**

N° d'ordre : I

MICRO- ORGANISMES	RESULTATS	Limite microbiologique (ufc /g ou ufc /ml)
* <i>Germes aérobies à 30°C</i>	Absence	10⁴
* Anaérobies sulfito-réducteurs	Absence	10
* Moisissures	45	10³
* Salmonella	Absence	Absence dans 25 gr
*COLIFORMES THERMOTOLÉRANTS	Absence	10

Denrée alimentaire à analyser : **POUDRE SÈCHE**

N° d'ordre : B

MICRO- ORGANISMES	RESULTATS	Limite microbiologique (ufc /g ou ufc /ml)
* <i>Germes aérobies à 30°C</i>	Absence	10⁴
* Anaérobies sulfito-réducteurs	Absence	10
* Moisissures	90	10³
* Salmonella	Absence	Absence dans 25 gr
*COLIFORMES THERMOTOLÉRANTS	Absence	10

➤ Discussion :

Les analyses microbiologiques font ressortir les résultats suivants :

- La présence de clostridium dans le dernier échantillon.
- L'absence de coliformes fécaux, et la présence de levures et moisissures non nocives.

h. La concentration micellaire critique (CMC) :

➤ Mode opératoire : [38]

- Dans un bécher on met 5g de poudre de jujubier avec 100ml d'eau distillée, le tout est mis sur agitation pendant 30min. Après on laisse reposer et on filtre.

- Après on prend à l'aide d'une éprouvette 20 ml de filtra et on mesure la conductivité et on préparé des dilutions successives 10 fois. On introduit l'électrode du conductimètre (électronique) dans les solutions ainsi préparées, en prenant soin que l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

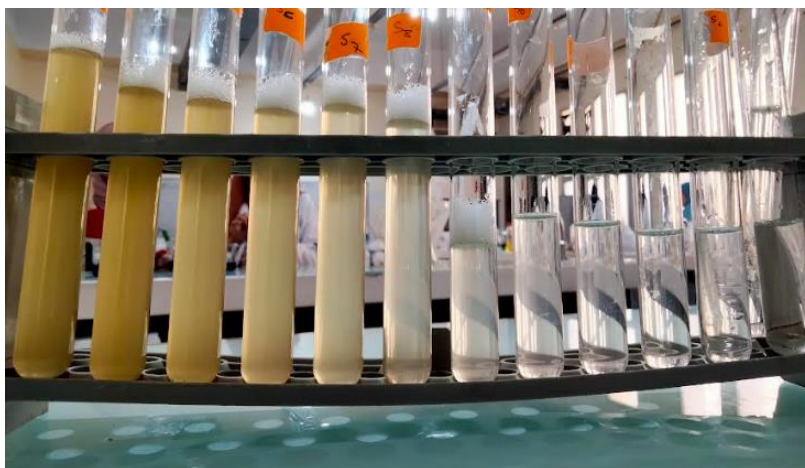
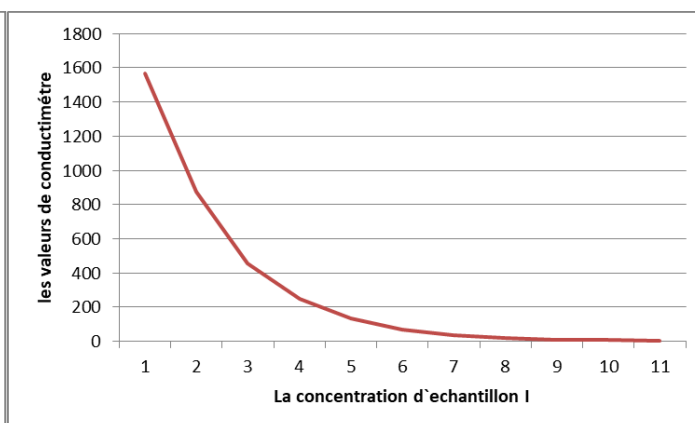
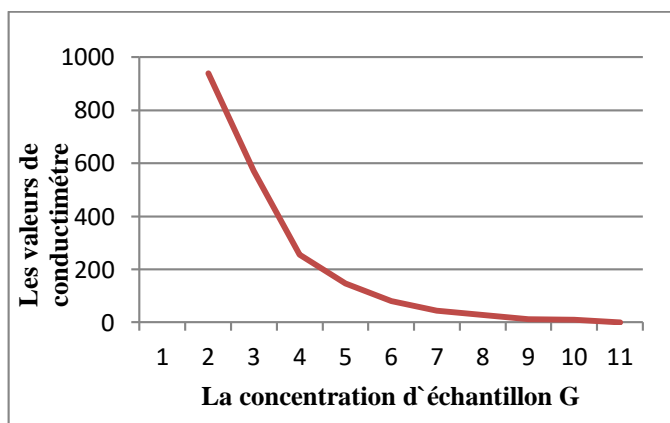


Figure 17: Dilution successive.

➤ **Résultats :**

Tableau 15 : Les valeurs de conductivité en fonction de la concentration des différents échantillons.

L'échantillons	La concentration (g/l)										
	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈	S ₉	S ₁₀
G	1366	784	443	243,6	131,4	68,4	36,5	19,67	11,35	6,55	4,48
I	1565	875	457	247,5	133,4	69,4	37,5	19,56	10,5	6,20	5,78
J	1236	685	368	203,4	116,1	65,9	36,8	22,33	13,40	9,09	8,00
B	1445	838	463	254,4	137	74	38,7	20,91	11,38	6,44	4,15
F	1611	870	572	259,6	146,6	79,5	44	27,69	12,70	8,90	6,79



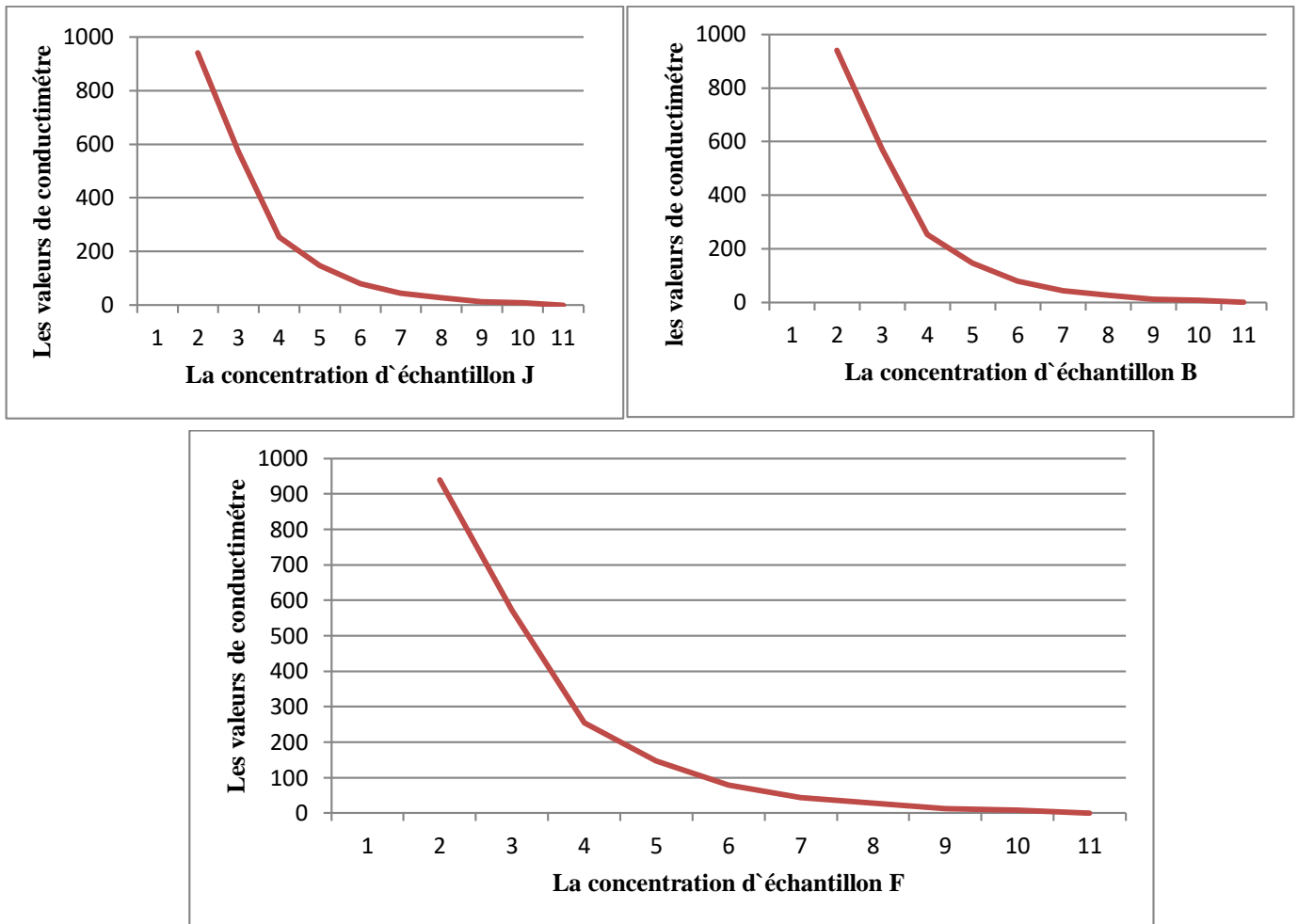


Figure 18 : Les courbes de conductivité en fonction de la concentration.

➤ Discussion :

L'allure de la courbe montre que la tension superficielle diminue jusqu'à une limite, la CMC, ensuite elle se stabilise plus ou moins (le tensioactif n'est plus assez concentré pour former des micelles), confirmant le fait que la diminution de la concentration en tensioactif fasse diminuer la tension de surface.

La valeur de la CMC (12,5mg/ml) obtenue par l'inter section entre deux tangentes des courbes obtenue

Théoriquement au fur et à mesure de la dilution du tensioactif, la tension superficielle commence par diminuer légèrement (le tensioactif sature entièrement la surface et s'organise ensuite sous forme de micelles).

i. La tension superficielle :

➤ Mode opératoire : [39]

On prend 2g de poudre dans un bécher et on ajoute 60ml d'eau distillée et on laisse agiter pendant 30min après on filtre le mélange.

On prend 20 ml d'eau distillée dans une burette et on compte le nombre de gouttes qui s'écoulent de la burette ; dans la même burette on compte le nombre de gouttes de 20 ml d'extrait, après on dilue successivement 5 fois cet extrait et on compte à chaque fois le nombre de gouttes. On a mesuré la masse des 20 ml de filtra, la masse des 20 ml d'eau et ainsi pour les différentes dilutions.

➤ Résultats :

Tableau 16 : Les valeurs de calcul de la tension superficielle de l'échantillon B.

Solution B	Eau	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Nbr de goutte	559	485	422	541	390	404	410
Masse (g)	18,97	18,24	18,79	18,56	17,68	18,05	19,30
ρ (g/l) (ρ = $\frac{m}{v}$)	998	831,5	829	886	859	902,5	964,5
δ(N/m)	29633,07	37027,97	35451,14	24974,53	39699,14	38248,64	41170,18

La formule de tension superficielle :

$$\gamma_L = \gamma_{eau} \cdot \frac{N_e \cdot \rho_L}{N_L \cdot \rho_e}$$

Avec : γ_L : La tension superficielle d'échantillon.

γ_{eau} : La tension superficielle d'eau.

N_e : Nbr de gouttes d'eau.

N_L : Nbr de gouttes d'échantillon.

ρ_L : La masse volumique d'échantillon.

ρ_e : La masse volumique d'eau.

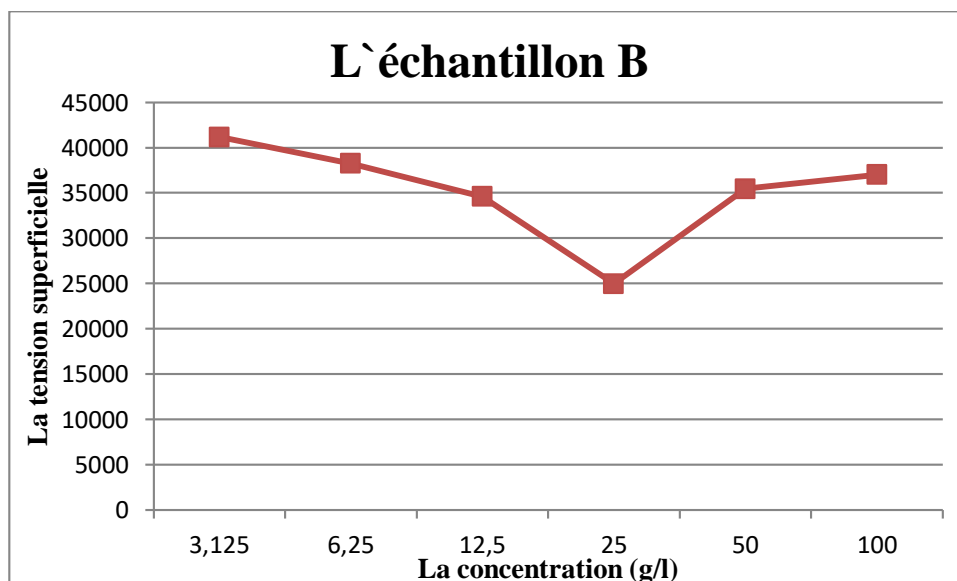


Figure19 : graphe de tension superficielle d'échantillon B.

Tableau 17 : Les valeurs de calcul de la tension superficielle de l'échantillon D.

Solution D	Eau	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Nbr de goutte	559	275	295	362	412	395	389
Masse (g)	18,97	19,56	19,22	18,89	18,72	17,86	19,13
ρ (g/l)	998	808	811,5	907	836,5	943,5	956,5
δ(N/m)	29633,07	48719,28	45741,36	41586,91	33699,75	39646,31	40812,51

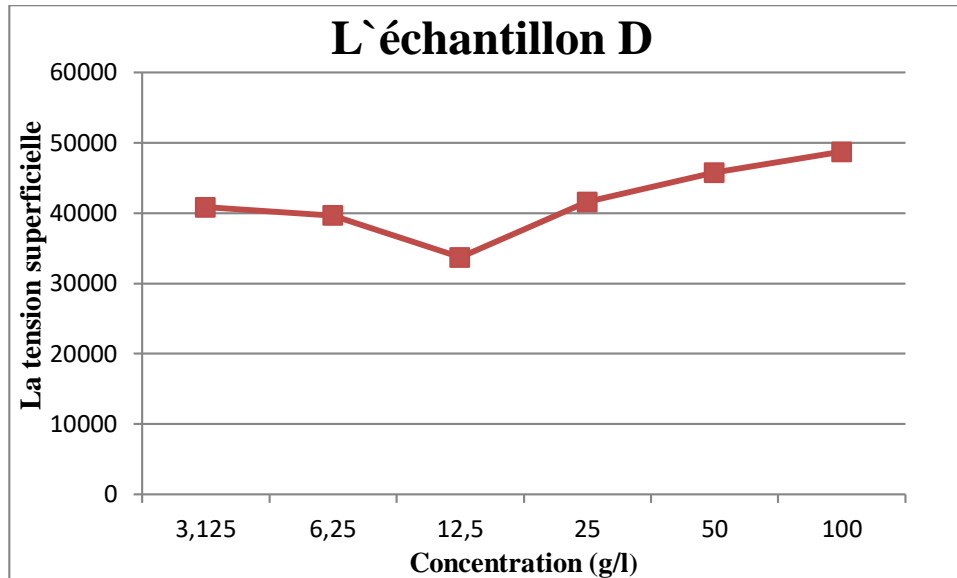


Figure 20 : graphe de tension superficielle d'échantillon D.

Tableau 18 : Les valeurs de calcul de la tension superficielle de l'échantillon G.

Solution G	Eau	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Nbr de goutte	559	451	394	412	458	403	361
Masse (g)	18,87	19,16	18,55	19,23	19,04	19,24	19,08
ρ (g/l)	998	958	927,5	961,5	952	962	954
δ(N/m)	29633,07	35257,12	39072,89	38735,57	34510,91	39408,59	43863,08

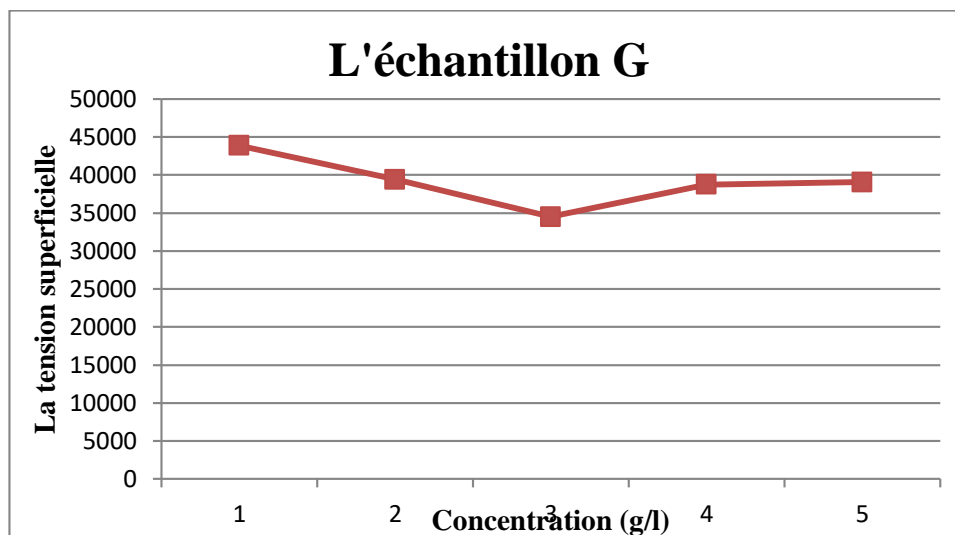


Figure21 : graphe de tension superficielle d'échantillon G.

Tableau 19 : Les valeurs de calcul de la tension superficielle de l'échantillon J.

Solution J	Eau	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Nbr de goutte	559	431	449	448	521	554	383
Masse (g)	18,87	19,23	19,18	18,88	19,23	18,85	19,00
ρ (g/l)	998	961,5	959	944	961,5	942,5	950
δ(N/m)	29633,07	37027,97	35689,59	31433,77	30609,14	28248,64	41170,18

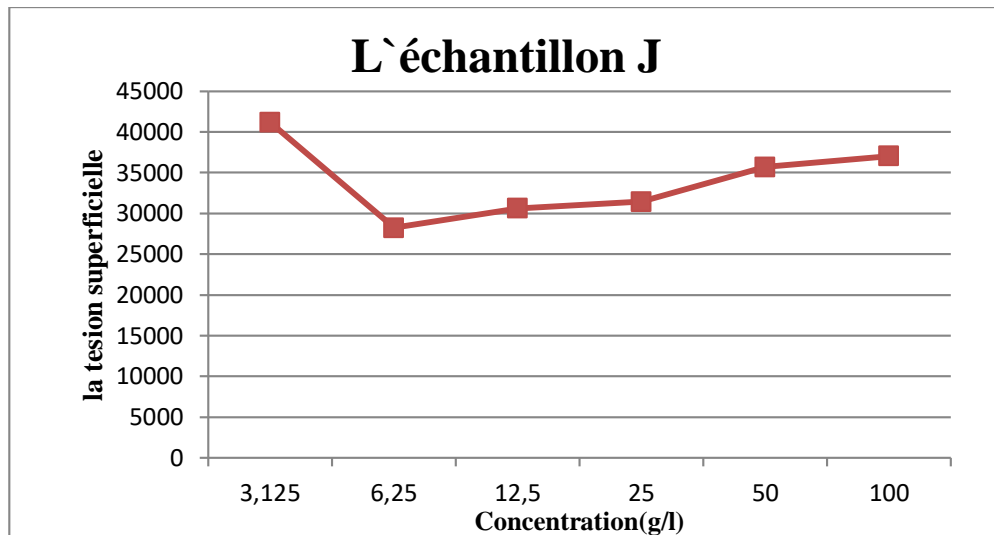


Figure22 : graphe de tension superficielle d'échantillon J.

Tableau 20 : Les valeurs de calcul de la tension superficielle de l'échantillon E.

Solution E	Eau	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Nbr de goutte	559	430	422	415	393	357	398
Masse (g)	18,970	18,58	19,28	18,86	18,71	18,76	19,60
ρ (g/l)	998	958	927,5	961,5	952	962	954
δ(N/m)	29633,07	36978,98	36468,58	38249,18	40207,06	44726,49	39785,35

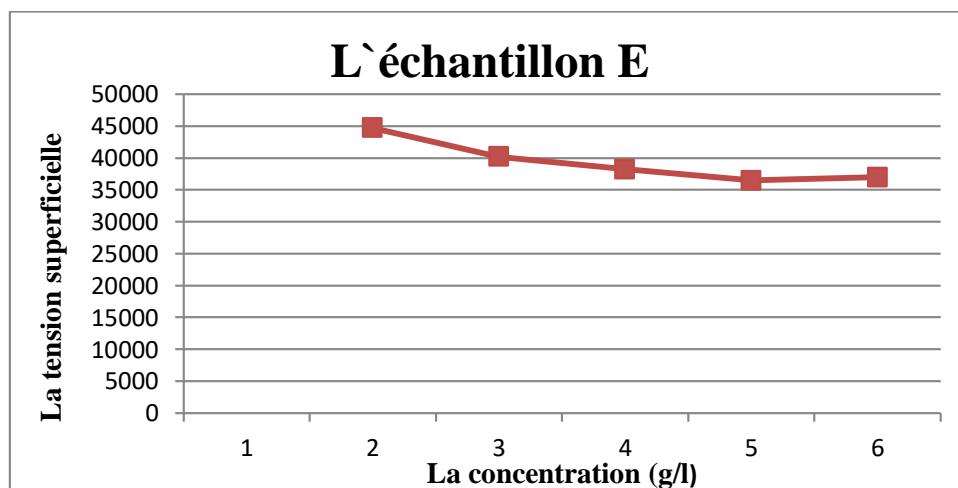


Figure23 : graphe de tension superficielle d'échantillon E.

➤ Discussion :

Les expériences réalisées dans ce contexte montrent que la tension superficielle mesurée par la méthode stalagmométrie diminue lorsque la concentration augmente jusqu'à une stabilisation.

Les cinq échantillons ont donné quasiment les mêmes résultats avec une tension superficielle minimale comprise entre 6,25 et 25 g/l.

La valeur moyenne étant de 35000 N/m pour une concentration de 12,5 g/l.

J. Les émulsions :

➤ Mode opératoire : [40]

Dans un bécher on met 5g de poudre de jujubier avec 50ml d'eau distillée, le tout est mis sous un agitateur pendant 2 heures. Après on laisse reposer et on filtre, et à l'aide d'une éprouvette on a prélevé 3ml de filtrat (solution mère).

On prépare les solutions filles à partir de la solution mère à différentes concentrations (1/3, 1/25, 1/6, 25/12, 5/25/50 et 100%) par dilutions successives et on complète dans chacun des cas avec l'huile de soja (1ml).

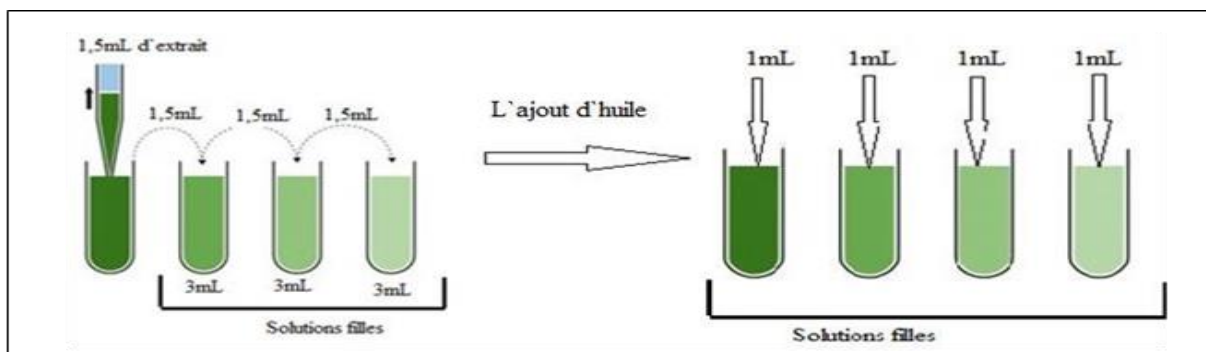


Figure 24: préparation des solutions filles

➤ Résultats :

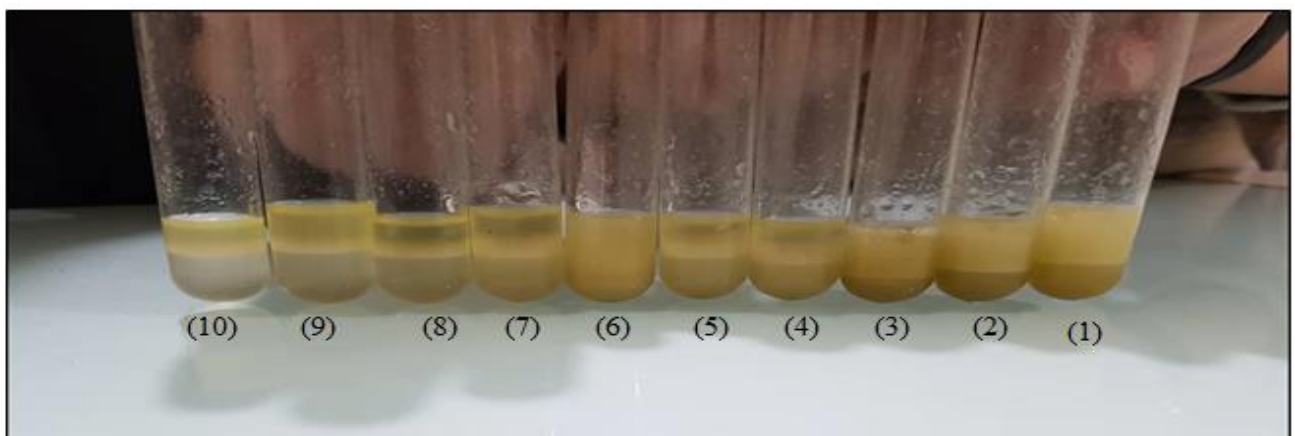


Figure 25 : Emulsification avec l'huile de soja et surnageant.

➤ Discussion :

D'après la figure on observe une émulsion dans le tube n°6 où il y a une phase et qui correspond à 3,125% en concentration.

Cette émulsion a présenté une stabilité de 1 heure sans aucune addition de stabilisant.

Cette émulsion présente une possibilité pour son utilisation en alimentaire mais en faisant une étude sur un stabilisant convenable.

Les mêmes expériences sont réalisées avec l'huile de maïs avec les mêmes concentrations que pour l'huile de soja, on a observé l'absence d'émulsion dans cette série de solutions.

k. spectrophotomètre Infrarouge à transformée de Fourier :

➤ échantillon (B) :

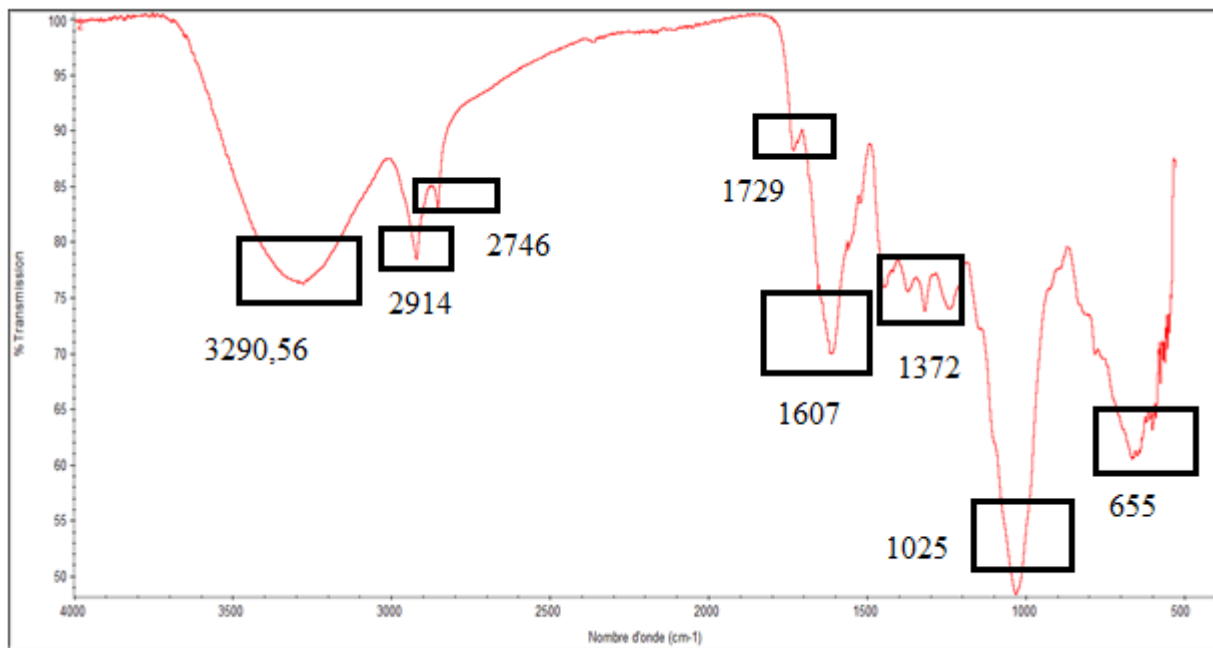


Figure 26: Le spectre ATR-FTIR d'échantillon B de jujubier

➤ Interprétation :

3290,25 : La bande caractéristique de la vibration d'élongation d'O-H type alcool et phénol.

2914 : La bande est attribuée à la vibration de C-H.

2746 : La bande correspond aux vibrations d'élongation de C-H.

1729 : La bande relative à la vibration d'élongation de C=O.

1607 : La bande est relative à la vibration d'élongation C=C.

1372 : La bande relative à la vibration d'élongation de CNO₂.

1025 : La bande est relative à la vibration d'élongation C-O.

655 : la bande est caractéristique de la vibration de type composé halogène.

➤ échantillon (C) :

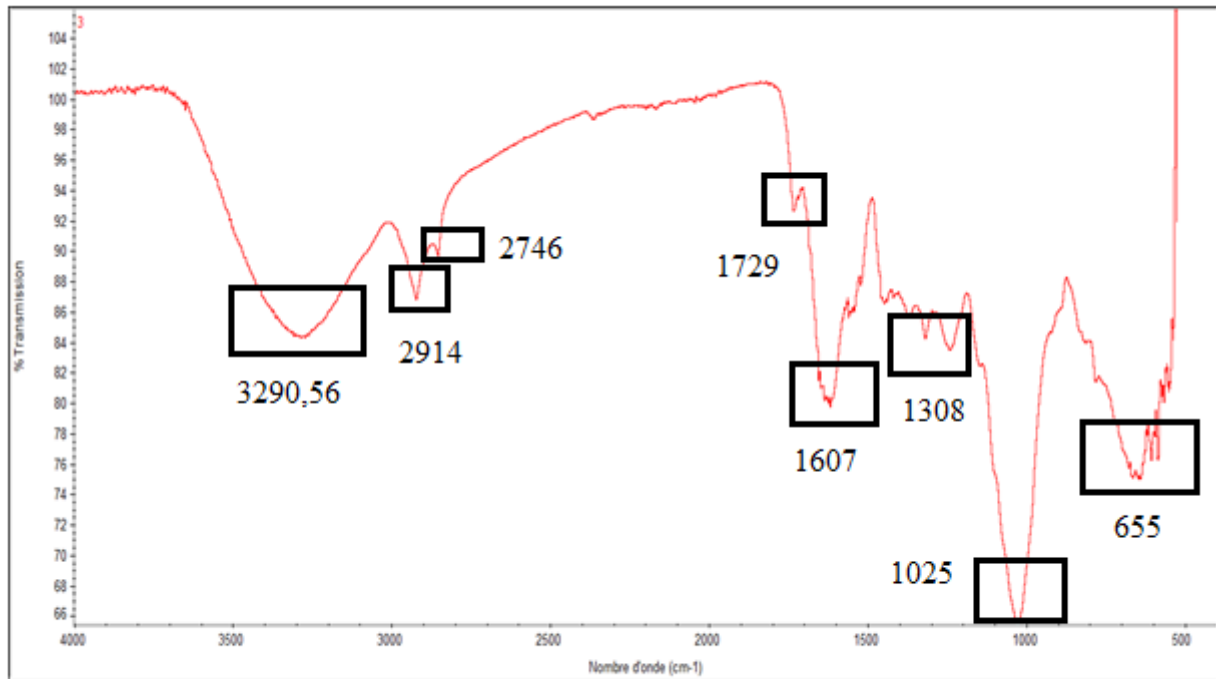


Figure27: Le spectre ATR-FTIR d'échantillon C de jujubier

➤ Interprétation :

3290,56 : La bande caractéristique de la vibration d'élongation d'O-H type alcool et phénol.

2914 : La bande est attribuée à la vibration de C-H.

2746 : La bande correspond aux vibrations d'élongation de C-H.

1729 : La bande relative à la vibration d'élongation de C=O.

1607 : La bande est relative à la vibration d'élongation C=C.

1308 : La bande relative à la vibration d'élongation de CNO₂.

1025 : La bande est relative à la vibration d'élongation C-O.

655 : la bande est caractéristique de la vibration de type composé halogène.

➤ échantillon (D) :

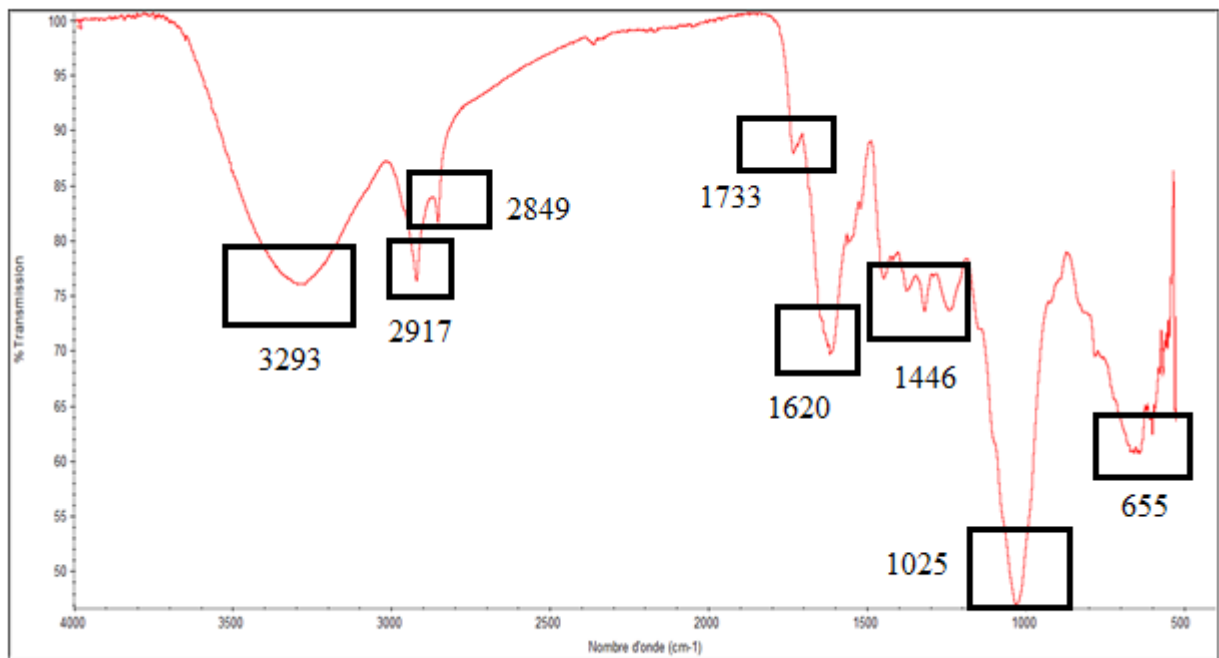


Figure28 : Le spectre ATR-FTIR d'échantillon D de jubilier.

➤ Interprétation :

3293 : La bande caractéristique de la vibration d'élongation d'O-H type alcool et phénol.

2917 : La bande est attribuée à la vibration de C-H.

2849 : La bande correspond aux vibrations d'élongation de C-H.

1733 : La bande relative à la vibration d'élongation de C=O.

1620 : La bande est relative à la vibration d'élongation C=C.

1446 : La bande relative à la vibration d'élongation de CNO₂.

1025 : La bande est relative à la vibration d'élongation C-O.

655 : la bande est caractéristique de la vibration de type composé halogène.

➤ Discussion :

Les spectres IR ont permis de confirmer à travers les résultats obtenus que les résultats des analyses Physico-chimiques (présence de polyphénols, polysaccharides, tanins...) sont en concordance avec les résultats IR.

Conclusion générale :

Notre recherche est basée sur l'étude des paramètres physico-chimiques, ainsi que la quantification de certains métabolites secondaires qui peuvent être présents dans les extraits des feuilles du jujubier (*Zizyphus jujuba*) qui s'est faite par les différents tests de screening, dosages des polyphénols totaux, évaluation de l'activité anti radicalaire par la méthode colorimétrique, l'analyse microbiologique, le caractère tensioactif et l'émulsification.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait des feuilles de *Zizyphus jujuba* possède un pH de 5,77, un taux d'humidité de 8,86 % et un taux de cendres de 14,95 %.

L'application de la CCM montre uniquement la probable présence de la chlorophylle.

Le rendement moyen d'extraction classique d'échantillon est de 7,54%, c'est un rendement faible par rapport au rendement moyen d'extraction par soxhlet 13,8 %, le rendement par macération est quasiment nul.

Les résultats obtenus grâce au screening phytochimique ont révélé la présence des polysaccharides, polyphénols, saponines, terpènes, phlorotannins, alcaloïdes et diterpènes, La présence de tannins catéchiques, La présence d'anthraquinones...

Les analyses faites sur les indices ont révélé que : l'indice d'acide est de 4,54, l'indice de peroxyde 26,8, l'indice de saponification 164,32, l'indice de iode est de 4,59 et l'indice d'ester 202,47, tous les indices sont conformes avec les valeurs trouvées en bibliographie sauf l'indice d'iode où la valeur est très faible comparée à celle trouvée par HAMIA(2007)/132,36.

La quantification des polyphénols par les méthodes colorimétriques prouvent que cette plante possède une activité antioxydante et pour cette raison une évaluation de cette propriété par le test au DPPH a été nécessaire. Les résultats obtenus ont montré que les valeurs d'IC50 sont 9 /9,25/12/50 pour les différents échantillons, les échantillons D et J présentent l'IC50 les plus bas ce qui correspond à une plus grande efficacité.

Les résultats des analyses microbiologiques montrent que :

- La présence de clostridium dans le dernier échantillon.
- L'absence de coliformes fécaux, et la présence de levures et moisissures non novices.

Les expériences réalisées sur la concentration micellaire critique et sur la tension superficielle ont montré que cette plante possède une propriété tensioactive, les valeurs moyennes de la CMC sont

(12,5mg/mL), et les valeurs de la tension superficielle sont (33036,8N/m), les polysaccharides présents dans cette espèce sont probablement à l'origine de cette tensioactivité.

L'étude de l'émulsification des feuilles de cette plante avec l'huile alimentaire de soja a présente une émulsion a la concentration de 3,125%.

Les résultats de Spectroscopie Infrarouge a transformée de Fourier ont confirmé les analyses physico-chimiques obtenus.

D'après ces résultats, nous concluons que la poudre des feuilles du jujubier (*Zizyphus jujuba*) peut être considérée comme une source importante de composés bioactifs ayant des propriétés antioxydantes, elle peut être utilisée pour des effets thérapeutiques divers et dans des préparations alimentaires afin de remplacer les produits chimiques.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]: Touati, Abdelmalek | «Etude de la variabilité morphologique des feuilles de jujubier dans la région de Tébessa » Thèse de Master, Univ Larbi Tébessa 2022.
- [2]:Bouamirene, Kebouchi « Evaluation des propriétés physico-chimiques et antioxydantes des feuilles du jujubier » Thèse de Master, Univ A. mira Bejaia 2021.
- [3] : Abdelliche, Bekkouche « Synthèse analytique des travaux phytochimique nationaux réalisé sur la plante Sedra » Thèse de Master, Univ des frères Mentouri 2020.
- [4] : Lounnas, Nadji «Les propriétés nutritionnelles, antioxydantes et thérapeutiques du fruit de jujube (Zizyphus jujuba) »Thèse de Master, Univ Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou 2020.
- [5] : Zoughtache « Etude de l`activité biologique des extraits de fruits de Zizyphus lotus » Thèse de Magister, Univ Elhadj Batna 2009.
- [6] : Dahlia « Analyse de la variabilité des fruits de quelques populations de Jujubier sauvage en Algérie » Thèse de Doctorat, Univ Ibn khaldoun Tiaret.
- [7] : Kayatou « Etude physico-chimique et de l`activité anti radicalaire de la pulpe de fruits de Zizyphus » Thèse de Doctorat, Univ de Bamako Mali.
- [8] : ZOUGHLACHE SOUMIA «Etude de l`activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus L » These de Master , Univ HADJ LAKHDER –BATNA 2009
- [9] : Smaali, Senouci « Effet de stockage sur la teneur en metabolites secondaire de quelques plantes medicinales » Thèse de Master, Univ Larbi Tébessa 2018.
- [10] : Adjailia, Drid « Comparaison des rendements d`extraction et des polyphenols chez Thymelaea hirsute(L) Endl» Thèse de Master, Univ Larbi Tebessi.
- [11] : MAHMOUDI, KHALI « Etude de l`extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d`artichaut (Cynara scolymus L.) » 2012
- [12]: BOUCHOUKA « Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes » Thèse de doctorat ; Univ BADJI MOKHTAR – ANNABA 2016.
- [13] : Bayoud, Belaidi « Etude phytochimiqueet de l`évaluation de l`activité antioxydante dur deux extraits de l`espèce (Genista.aspalathoides Lamk et Genista. quadriflora Munby) ». Thèse de Master, Univ Blida 1, 2021.
- [14] : GERARD DUPONT, MICHEL DUTEIL, CHRISTINE LEGUEUT, « Cours de générale,ed.ellipses » 1989.

- [15]: Diouf PN, Stevanovic T, Cloutier A. « Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions ». Food chemistry. 2009 .
- [16]: DAOUDI Yasmina. « Elimination d'un colorant source de contamination de l'eau par oxydation anodique »Thèse de Master, Univ Blida 1. 2021
- [17] : « Etude et évaluation de l'activité antioxydants de l'huiles essentielles de cannelle Ceylan immobilisée dans un matériau naturel», Unvi-Blida, septembre 2021.
- [18] :ANIZON , LEMAIRE B, SURBLED M « Extraction assistée par micro-ondes. Techniques de l'ingénieur Agroalimentaire. 2003 .
- [19]. Pore J. « Émulsions, micro-émulsion, émulsion multiples »,Éditions Techniques et Industries des Corps Gras 1992.
- [20]. Haigh S.D. « A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil», The science of the Total Environment 1996
- [21]. Clint, (1992). Surfactant Aggregation, Blackie Chapman and Hall, New York.
- [22]. Marti, (1989). Nouvelles voies de synthèse de tensio-actifs zwitterioniques et mésoioniques « étude comparative de leur agrégation moléculaire en solution dans l'eau, le formamide et la 3-méthylsydnone» Doctoral dissertation, Univ. Grenoble.
- [23]. Menger, C.A. Littau, J. Am. Chem. (1991). « Gemini-surfactants: synthesis and properties». Journal of the American chemical society.
- [24]. Rosen, (2004).« Foaming and antifoaming by aqueous solutions of surfactants. Surfactants and interfacial phenomena, »Wiley New York.
- [25]. B, Lindman, M-C. Puyal, N. Kamenka , R.Rymden , P.Stilbs(1984). « Micelle formation of anionic and cationic surfactants from fourier transform proton and lithium-7 nuclear magnetic resonance and tracer self-diffusion studies». the journal of physical chemist.
- [26]. BORDES, R. et (2007).Thèse de doctorat, L'universite De Toulouse, France.
- [27]. P. C. Schulz, J. L. Rodríguez, R. M. Minardi, M. B. Sierra, M. A. Morini, J, (2006).
- [28]. J. N. Israelachvili, D.J.Mitchell, B.W. Ninham, (1976). «Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers ». Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics.
- [29]. N. Taulier, (1999).«Bouton-pression moléculaires dans des phases lame l'aires inverses stabilisées par des interactions stériques » Thèse de doctorat, Univ. Pierre et marie Curie, Paris.
- [30]. ROSEN M., Surfactants, and Interfacial Phenomena, J. Wiley (2004).
- [31]: Kara, Beddek « Mise au point d'un systeme disperse stable a usage cpsmetique ». Thèse de Master. Univ Mouloud mammeride Tizi-ouzou, 2017.
- [32]: Institue pasteur.
- [33]:Normalisation Afnor, 1970.

- [34]: Junaid R Shaikh and MK Patil. «Quantitative tests for preliminary phytochemical screening:An overview » International Journal of Chemical Studies, 2020.
- [35]. «Contribution à l'étude de la qualité de l'huile d'Argania spinosa de Tindouf (Algérie) par des méthodes physicochimiques », Univ- Abou Bekr Belkaid Tlemcen, juin 2017.
- [36]. Clémence, B «les huiles essentielles de cannelle de ceylan (Cinnamomum zeylanicum) » Thèse de doctorat, université de Picardie Jules verne, (2014).
- [37]. Blois, M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochem. 2002
- [38]. Sharma, M.K, et Shah,D.O. «Macro et microémulsions Theory and Applications » Shah 1985.
- [39]. S.E.CHITOUR, CHIMIE DES SURFACES, Ed. OPU,1990.
- [40]. Aoudia, M, Rodgers, M.A.J, et Wade, W.H.J. Colloid, interface. Sci, 144,351 (1991).