



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
Université Echahid Chiekh Larbi Tébessi - Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la
Nature et de la Vie
Département: Des êtres vivants



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Science de la nature et de la vie

Filière: Biotechnologie

Spécialité: Biotechnologie végétale

Thème

*Effet du gradient climatique sur les composants phénoliques et
l'activité antioxydante du fruit de Zizyphus lotus (L.) Lam. dans la
région de Tébessa*

Présenté par

Zerdoumi Ines

Brakni Dhia

Devant le jury

Mehalaine Souad	MCA	Univ. Tébessa	Président
Hioun Soraya	MAA	Univ. Tébessa	Promoteur
Dekak Ahmed	MCA	Univ. Tébessa	Examineur

Année universitaire: 2022/2023

Remerciements

Avant tout propos, nous remercions ALLAH le Tout Puissant
de nous avoir donné la capacité et la volonté
d'aller jusqu'au bout de ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur

Mme Hioun Soraya pour son suivi régulier de ce travail et la
confiance qu'elle nous a accordée, sans oublier l'ensemble de nos
professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre cursus
universitaire.

Dédicaces

En guise de reconnaissance, je dédie ce travail

A mes chers parents,

A mes frères et sœurs.

A tous mes oncles et tantes

Et tous mes amis.

Ines zerdoumi

Résumé

Dans le cadre de la valorisation de notre richesse naturelle en plantes médicinales, nous nous sommes intéressés à une espèce de la famille des Rhamnacées, *Zizyphus Lotus* (L.)Lam. Cette étude est une double comparaison, la première entre trois sites allant du nord au sud de la wilaya de Tébessa (Ouenza, Ogla el melha et Négrine) et la deuxième entre trois extraits du fruit (méthanolique, éthanolique et aqueux).

L'extraction a été faite par macération pour les extraits alcooliques et par infusion pour l'extrait aqueux. Les éléments dosés sont les polyphénols, les flavonoïdes totaux, les tanins condensés et les anthocyanes totaux, en plus de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont plus élevés en extraits aqueux, suivi par l'éthanolique puis le méthanolique. Pour les tanins, nous avons obtenu une réponse inverse inverse que les polyphenols et les flavonoïdes. Pour les teneurs en anthocynes les valeurs les plus élevées sont dans l'extrait éthanolique. L'effet du site est très hautement significative, seulement pour les anthocyanes. L'activité antioxydante a montré que les extraits méthanoliques (3,52 µg/ml) sont les plus proches de l'acide ascorbique (2.62 µg/ml) suivit par les extraits éthanoliques et en dernier les extraits aqueux, mettant en avant le fruit collecté du site de Négrine.

Mots-clés : *Zizyphus lotus*, composés phénoliques, activité antioxydante, DPPH, climat, Tébessa.

المُلخَص

كجزء من تّثمين الثروة الطبيعية للنباتات الطبية ، قمنا بدراسة نوع من العائلة السدرية ، *Zizyphus Lotus* (L.) Lam (السدر البري). هذه الدراسة عبارة عن مقارنة مزدوجة ، بين ثلاثة مواقع تمتد من شمال إلى جنوب ولاية تبسة (ونزة ، وعقلة المالحة ، ونقرين) وبين ثلاثة مستخلصات من الثمرة (ميثانول ، إيثانول ، ومائي).

تم الاستخلاص بالنقع في المستخلصات الكحولية وبالماء الساخن للمستخلص المائي. العناصر التي تم فحصها هي البوليفينول ، الفلافونويد الكلي ، العفص المكثف والأنثوسيانين الكلي ، بالإضافة إلى النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن محتويات البوليفينول والفلافونويد أعلى في المستخلصات المائية ، يليها الإيثانول ثم الميثانول. في العفص . بالنسبة للعفص ، حصلنا على استجابة عكسية من البوليفينول والفلافونويد. بالنسبة لمحتويات الأنثوسين ، توجد أعلى القيم في المستخلص الإيثانولي. أظهرت مقارنة المواقع اختلاف مهم بالنسبة للأنثوسيانين. كما بين النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلصات الميثانولية (3.52 ميكروغرام / مل) هي الأقرب إلى حمض الأسكوربيك (2.62 ميكروغرام / مل) تليها المستخلصات الإيثانولية وأخيرًا المستخلصات المائية . وقد كانت الثمار التي تم جمعها من موقع نيقرينهي الاحسن.

الكلمات المفتاحية: *Zizyphus Lotus*، مركبات فينولية ، نشاط مضاد للأكسدة ، DPPH ، مناخ

،
تبسة.

Abstract

In order to value the richness of our natural tradition of medicinal plants, we developed an interest in the *Zizyphus Lotus* (L.) Lam species of the Rhamnaceae family. This study is a double comparison, first, between three sites going from north to south of the wilaya of Tébessa (Ouenza, Oglal melha, and Négrine) and second, between three extracts of the fruit (methanolic, ethanolic, and aqueous).

The extraction was by maceration for the alcoholic extracts and infusion for the aqueous extract. The elements assayed are polyphenols, total flavonoids, condensed tannins, and total anthocyanins, besides the antioxidant activity of the DPPH free radical scavenging method.

The obtained results showed that aqueous extracts had the highest levels of polyphenols and flavonoids, followed by ethanol and methanol. In tannins, we get the opposite pattern. Anthocyanin contents: the highest values are in the ethanolic extract. The comparison of sites is highly significant only for anthocyanins. The antioxidant activity showed that the methanolic extracts are closest to ascorbic acid with, respectively, 3.52 and 2.62, followed by the ethanolic extracts (7.35 to 9.51), and in last methanolic extracts (8.53 to 10.51), highlighting the site of Négrine.

Keywords: *Zizyphus lotus*, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH, climate, Tébessa.

The results obtained showed that the contents of polyphenols and flavonoids are higher in aqueous extracts, followed by ethanol and then methanol extracts. For tannins, we obtained an inverse response than polyphenols and flavonoids. For anthocyanin contents the highest values are in the ethanolic extract. The effect of site is very highly significant, only for anthocyanins. The antioxidant activity showed that the methanolic extracts (3.52 µg/ml) are closest to ascorbic acid (2.62 µg/ml) followed by the ethanolic extracts and lastly the aqueous extracts, highlighting the fruit collected from the Négrine site.

Table de matière

Résumé	i
Abstract	ii
.الملخص.....	iii
Tables des matières	iv
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des abréviations.....	viii

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Partie I : Revue bibliographique

1. Généralités sur <i>Zizyphus lotus</i>	4
1.1. Dénominations internationales.....	4
1.2. Classification botanique.....	4
1.3. Description botanique.....	5
2. Répartition géographique.....	6
3. Cycle de développement.....	7
4. L'importance écologique.....	7
5. Composition chimique	8
6. Utilisations médicinales.....	8
7. Utilisations alimentaire.....	9

Partie II. Matériel et méthodes

1. Zone d'étude.....	11
1.1 Situation géographique de la wilaya de Tébessa.....	11
1.2. Sites d'échantillonnage.....	11
2. Matériel végétal.....	12
2.1. Extraction pour le dosage.....	12
2.1.1. Extraction alcoolique	12
2.1.2. Extraction aqueuse.....	12
3. Analyses quantitatives.....	12

3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	13
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	13
3.3. Dosage des tanins.....	13
3.4. Dosage des anthocyanes.....	14
4. Etude de l'activité antioxydant	14
5. Analyse statistique.....	15

Partie III : Résultats et discussion

1. Les métabolites secondaires.....	17
1.1. Les polyphénols totaux.....	17
1.2. Les flavonoïdes totaux.....	18
1.3. Les tannins condensés.....	19
1.4. Les anthocyanes totaux.....	20
2. Étude de l'activité antioxydante.....	21
Conclusion.....	24
Références bibliographiques.....	27
Annexes.....	33

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Vue globale de <i>Zizyphus lotus</i> (A). Rameau feuillé (B).Fleurs(C). Fruits mûres (D)	5
2	Aire de répartition de la plante dans le monde.	6
3	Répartition géographique de jujubier sauvage en . Algérie	6
4	Carte de la wilaya de Tébessa et localisation des sites d'échantillonnage de <i>Zizyphus lotus</i>	11
5	Comparaison des teneurs en polyphénols de différents extraits du fruit de <i>Zizyphus lotus</i> de trois régions de Tébessa du Nord au Sud.	18
6	Comparaison des teneurs en Flavonoïdes totaux de différents extraits du fruit de <i>Zizyphus lotus</i> de trois régions de Tébessa du Nord au Sud.	19
7	Comparaison des teneurs tanins condensés de différents extraits du fruit de <i>Zizyphus lotus</i> de trois regions de Tebessa du Nord au Sud	20
8	Comparaison des teneurs en anthocyanes de différents extraits du fruit de <i>Zizyphus lotus</i> de trois regions de Tebessa du Nord au Sud.	21
9	Comparaison du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'acide ascorbique,	22

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
1	Pourcentage de la composition primaire de <i>Zizyphus lotus</i>	8
2	Coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage de <i>Z. lotus</i> dans la wilaya de Tébessa	12
3	Valeurs de l'IC50 de l'activité antioxydante DPPH de l'acide ascorbique, des extraits aqueux (H), éthanolique (E) et méthanolique (M) du fruit de <i>Z. lotus</i> de trois régions de Tébessa du Nord au Sud, Ouenza (Z), Oglal Melha (O) et Négrine (N).	23

Liste des abréviations

Abs : absorbance

AG : Acidegallique

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EOH : Ethanol

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

MeOH : Méthanol

Mv : Matière végétale

Ms : Matière sèche

Introduction

En Algérie, comme dans tous les pays du monde, plus de 20 000 plantes aromatiques et médicinales sont utilisées en médecine traditionnelle (Meissner, 2004). La nature est donc la principale source de médecine pour le traitement de différents maux depuis l'Antiquité. Ces derniers temps, la concentration sur la recherche végétale a augmenté partout dans le monde et un grand nombre de preuves sont recueillies pour montrer l'immense potentiel des plantes médicinales utilisées dans différents systèmes traditionnels (Dahanukar *et al.*, 2000).

Selon certaines études, les plantes médicinales ont une grande capacité d'adaptation aux conditions climatiques difficiles. Elles s'adaptent par ses propres ressources à tout les stress, grâce à ses molécules organiques complexes qui sont synthétisées et assemblées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge *et al.*, 2002). Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques (Aberkane, 2006). La recherche d'antioxydants naturels en particulier à partir de plantes a augmenté et certaines plantes médicinales ont été largement étudiées pour des activités anti-oxydantes, qui proviennent principalement de plantes sous forme de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et l'acide phénolique (Shahin *et al.*, 2008) et les tanins (Ramawat *et al.*, 2009).

L'une de ces plantes est le *Zizyphus lotus* (L.) Lam avec une large distribution et des utilisations dans le monde. En Afrique, *Z. Lotus* est largement distribué dans les Régions méditerranéenne, comme l'Algérie, le Maroc, la Tunisie et la Libye (Pottier, 1981). Les espèces fruitières de *Zizyphus*, se trouvent dans les zones arides et semi-arides voire, même désertiques de presque tous les continents grâce à leurs capacités de résistance à la sécheresse et à leurs mécanismes physiologiques et morphologiques d'adaptation (Laamouri *et al.*, 2008). L'espèce *Z. lotus* pousse dans diverses conditions environnementales (Hammi *et al.*, 2015) et s'adapte aux différents types de sols de multiples climats (Laamouri *et al.*, 2008). Ces dernières années, plusieurs rapports scientifiques ont été réalisés sur la présence de nombreuses molécules biologiquement actives de *Z. lotus*, qui peut avoir un bénéfice élevé pour la nutrition humaine et la santé (Chouaibi *et al.*, 2011). Les études faites sur les métabolites secondaires de *Z. lotus* a permis de mettre en évidence la présence des composés phénoliques qui présentent des propriétés antioxydantes (Abdoul-Azize *et al.*, 2013 ; Ghazghazi *et al.*, 2014).

L'objectif principal de ce travail est l'évaluation des teneurs en polyphénols et certaines de ces composantes telles que les flavonoïdes totaux, les tanins condensés et les anthocyanes ainsi que l'activité antioxydante par DPPH du fruit de *Z. lotus* de la région de Tébessa à travers un gradient climatique du nord au sud dans trois extraits, dont un aqueux et deux alcooliques (éthanol et méthanol).

Le présent mémoire s'articule autour de 3 parties : La première partie, consacrée à une synthèse bibliographique, qui s'intéresse notamment aux généralités sur l'espèce du genre *Z. lotus*. La deuxième partie concerne le matériel et les méthodes utilisés. La troisième partie présente les principaux résultats obtenus et en dernier la discussion et la conclusion.

Partie I
Revue Bibliographique

1. Généralités sur *Zizyphus lotus*

Le jujubier est un arbre ou arbuste de la famille des Rhamnacées, du genre *Zizyphus* (Munier, 1973), il aurait pour origine un mot arabe qui est ‘‘Zizouf’’ (Brosse, 2000). *Zizyphus lotus* (L.)Lam., est une espèce communément appelée 'sedra'(Borgi *et al.*, 2008), et évoqué dans le Coran, il est considéré par les musulmans comme arbre sacré, ou arbre du paradis (Richardson *et al.*, 2004).

1.1 Dénominations internationales

La Dénomination internationale de cette plante est résumée comme ci-dessous selon Ghedira (1995).

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

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

Allemand : Wilde Jujube

Portugais : Acufeifa-menor

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

Arabe : Zizouf زيزوف, sedra سدرة, sidr سدر, sidr barri سدر بري

I.2. Classification botanique

D’après Quezel et Santa (1962) *Zizyphus lotus* (L.)Lam. se classe comme ci-dessous, Cette classification n’a pas changée en APG III.

Embranchement : Spermatophytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Sous classe : Dicotylédone.

Ordre : Celastrales

Famille : Rhamnacées.

Genre : *Zizyphus*.

Espèce : *Zizyphus lotus* (L.)Lam.

2. Description botanique

Le jujubier sauvage *Zizyphus lotus* (L.) Lam. est un arbuste fruitier, épineux (Fig. 01-A) (Rsaissi et Bouchache, 2002). C'est une plante frutescente de 1,3 à 2,2 m, très ramifiée dont les rameaux sont recourbés vers le bas, flexueux, blanc grisâtre à épines par paires droites ou recourbées (Ghedira *et al.*, 1995). Les feuilles sont glabres, glauques en dessous, petites, courtes, ovales plus au moins elliptiques de 1 à 2 cm de longueur et de 7 mm de largeur à marges entières ou finement sinuées (Bayer et Butter, 2000) (Fig. 01-B). Les fleurs sont très visibles de couleur jaune avec des sépales ouvertes en étoiles, un ovaire supère bisexuel et fleurissent en juin (Baba Aissa, 1999 ; Rabaa, 2007) (Fig. 01-C). Il contient un fruitovoïde, ayant la forme et la grosseur d'une belle olive d'abord vert puis jaune, il devient rouge foncé quand il est mûr, en octobre (Fig. 01-D). Sa pulpe épaisse peut être d'un blanc verdâtre et d'une saveur à la fois douce et acidulée ou brun jaunâtre, un peu glutineuse, à saveur sucrée et fade (Bayer et Butter, 2000).



Figure 01 : Vue globale de *Zizyphus lotus* (A). Rameau feuillé (B). Fleurs (C). Fruits mûres (D) (photos personnelles)

2. Répartition géographique

Le genre *Zizyphus* inclus entre 135 à 170 espèces (Najjaa *et al.*, 2017). Selon Baba Aissa (1999), *Z. lotus* est une espèce méditerranéenne et subtropicale surtout en Afrique du Nord. Elle est spontanée dans le Sud de L'Espagne et du Portugal, en Sicile, en Grèce, elle s'étale sur tout le nord du Maghreb Arabe (Catoire *et al.*, 1999 ; Brosse, 2000) (Fig. 02). Le *Z. lotus* est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1962), il est présent notamment sur les Hautes plaines steppiques (Quezel et Santa, 1963) (Fig. 03).

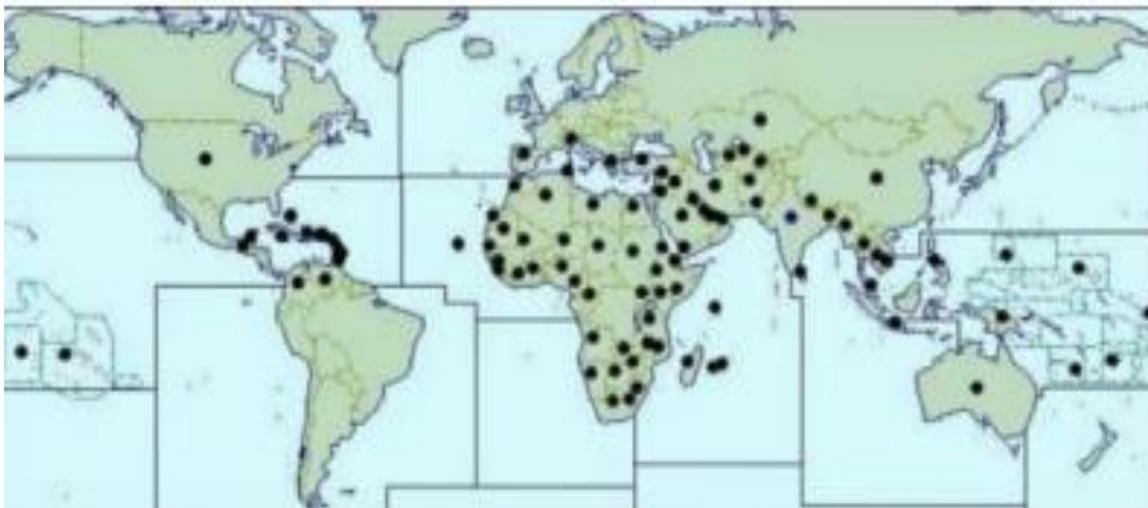


Figure02 : Aire de répartition de la plante dans le monde ([http : // www.uomisan.com](http://www.uomisan.com)).

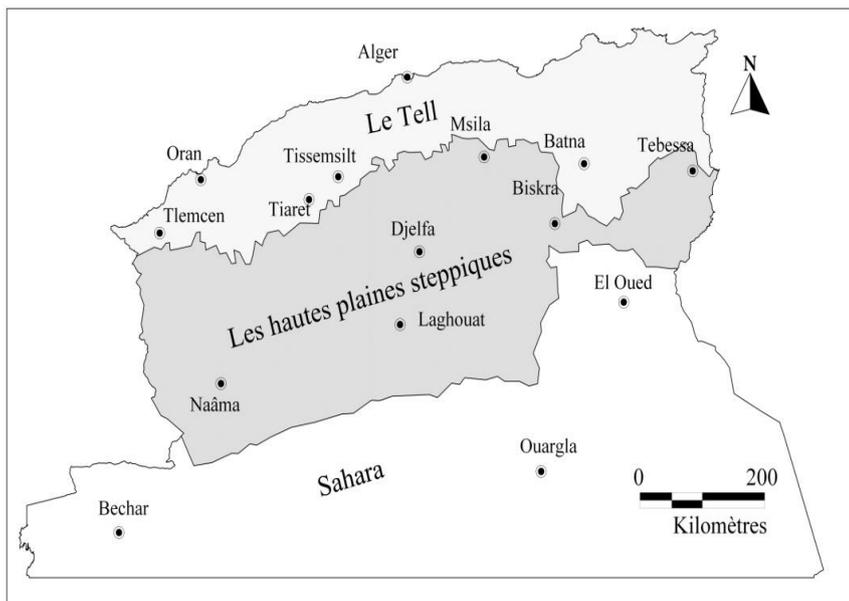


Figure03 : Répartition géographique de jujubier sauvage en Algérie (Amara *et al.*, 2020).

3. Cycle de développement

Les arbustes de jujubier sauvage sont dormants depuis le mois d'octobre jusqu'au mois de mars. La croissance de la partie racinaire est antagoniste avec la partie aérienne, cet antagonisme se caractérise par une diminution ou un arrêt de la croissance d'une partie lorsque l'autre est en croissance (Dahlia *et al.*, 2019). Le jujubier fait apparaître trois phases importantes (Laamouri *et al.*, 2008).

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

Quant à la partie aérienne, trois périodes de développement sont distinguées :

La floraison de *Z. lotus* est entre le mois de mai et le mois de juin et produit des fruits durant août et septembre (Najjaa *et al.*, 2017). Le jujubier sauvage est peu exigeant en eau, avec une croissance très lente et commence à porter des fruits vers l'âge de 4 ans, ils peuvent continuer à paraître vers 20 à 25 ans (Benammar, 2011), est en dormance d'octobre à mars et les plantes matures fleurissent en mai et juin et produisent des fruits en août (Maraghni *et al.*, 2010).

4. Importance écologique

Le jujubier est rustique, s'adaptant à des conditions climatiques très diverses, il est d'une grande plasticité écologique (Laamouri *et al.*, 2008). Il résiste mieux au gel d'hiver, jusqu'à 15 °C, qu'aux gelées printanières à cause de sa floraison tardive (mai- juillet) (Paroda et Mal, 1989). Il supporte très bien la sécheresse et exige de grandes quantités de chaleur pour fructifier (maximale 45°C) (Asatryan et Tel Zur, 2014). Le jujubier sauvage préfère les sols neutres, légèrement alcalins, profonds et sableux et tolérant à la salinité (Tardío *et al.*, 2016). Il pousse dans les zones rocailleuses, les falaises, et les pieds des collines (Chehma, 2006). L'importance écologique de *Z. Lotus* 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 (Olite *et al.*, 2012).

5. Composition chimique

Le *Z. lotus* est une plante médicinale qui synthétise de nombreux métabolites primaires et secondaires. Selon Chouaibi *et al.* (2011), cette plante renferme des protéines (19,11%), des Carbohydrates (40,87%) et des lipides (32,29%). Les métabolismes secondaires sont cités au niveau du tableau 01 selon la partie concernée du végétal.

Tableau 01 : Composition en métabolites secondaires des différents organes de *Z. lotus*

Organe végétal	Composition chimique	Références
Fruit	Acides phénoliques Flavonoïdes Tanins	Ghazghazi <i>et al.</i> , 2014 Hammi <i>et al.</i> , 2015
Feuille	Flavonoïdes ; Tanins ; Saponines ; Jujuboside B ; 3 jujubogenine glycosides ; Jujubasaponine IV	Abdoul-Azize, 2016
Ecorce des racines	Flavonoïdes, saponines de type damarane. Tanins. Alcaloïde cyclopeptidiques lotusines A-G	Borgi <i>et al.</i> , 2008

6. Utilisations médicinales

Le *Z. lotus* est utilisé en médecine traditionnelle et ancestrale, à la fois en Afrique du nord et au Moyen-Orient, pour le traitement de plusieurs pathologies dont l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée, l'insomnie, l'inflammation et les peptisateurs (Ghedira *et al.*, 1995 ; Abdoul-Azize, 2016).

Plusieurs parties de *Z. Lotus* ont été utilisés pour le traitement des bronchites et abcès (Bellakhder, 1997). De plus, la poudre de feuilles et de fruits secs mélangés à de l'eau ou du lait est utilisée pour le traitement des furoncles (Borgi *et al.*, 2008), et l'écorce de racine est utilisée pour le traitement du diabète (Ghedira *et al.*, 1995). Le jus des racines de *Z. Lotus* est

efficace dans le traitement des leucomes oculaires (Boukef *et al.* , 1986). Les fruits et les feuilles sont utilisés comme émollient (Bellakhder,1997) et dans le traitement de la diarrhée et des maladies intestinales (Boukef *et al.*,1986).

7. Utilisations alimentaires

Les jujubes se consomment de différentes manières. Ils sont consommés comme aliment frais, conservés, secs, ou utilisés en confiserie et en pâtisserie, et leur jus peut être utilisé pour la préparation de boissons rafraîchissantes (Lahlou *et al.*, 2002). En Inde, les fruits mûrs sont utilisés pour la préparation des produits secs semblables à ceux de ladatte sèche. Ils sont consommés en hiver comme dessert (Parrek, 2001). Le miel issu du butinage de ses fleurs est un miel de haute qualité nutritive agréable et médicinale (Ghazanfar, 1994). Le fruit de *Z.lotus* est aussi utilisé pour la confection du pain appelé Oufers chez les Touaregs. En Chine, ce fruit est très utilisé pour la fabrication du vin, consommé glacé ou avec du thé (Ghost et Lysias, 2007).

Partie II

Matériel et Méthodes

Tableau 02 : Coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage de *Z.lotus* dans la wilayade Tébessa.

Lieu		Latitude	Longitude	Altitude (m)
Site 1	Ouenza	36° 1'0.14" N	8° 6'49.65" E	560
Site 2	Ogla el melha	34°52'16.09" N	7°58'20.30" E	950
Site 3	Négrine	34°30'39.14" N	7°36'2.79" E	348

2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé, dans notre étude, est les fruits de *Z. lotus*, collectés en début d'octobre 2022. Après lavage et séchage des fruits pendant 2 mois à l'air libre, nous avons moulu finement le fruit en entier (trois parties : pulpe, noyau et amande). La poudre de chaque échantillon a été conservée dans une boîte hermétiquement fermée à 4 °C.

2.1. Extractions

2.1.1. Extraction alcoolique

Pour les extraits alcooliques, nous avons utilisé deux alcools absolus, le méthanol et l'éthanol. Donc pour chaque extrait éthanolique et extrait méthanolique, de 2 g de poudre des fruits de *Z.lotus* a été ajoutée à 40 ml de chaque alcool (qui a été ajouté en deux fois). L'extraction est par macération pendant 24 heures à l'obscurité avec agitation, puis centrifuger à 800 tours durant 10 min et filtrer sur papier Wattman. Les extraits sont conservés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à utilisation.

2.1.2. Extraction aqueuse

L'extrait hydrique est préparé à partir de 2 g de poudre du fruit de *Z. lotus* dans 40 ml d'eau distillée bouillant en infusion, puis laissé à température ambiante pendant 24 heures à l'obscurité avec agitation. Puis centrifuger à 800 tours durant 10 min et filtrer sur papier Wattman puis conserver au froid à 4 °C.

3. Analyses quantitatives

Pour chaque site et dosage, quatre répétitions ont été faites.

3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, selon le protocole appliquée par Miliuskas *et al.* (2004).

1 ml de l'extrait de la plante est mélangé avec 5 ml de folin ciocalteu et après 4 min on ajoute un volume de 4 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à concentration 75 g/l). L'absorbance est mesurée à 765 nm. La concentration des polyphénols est calculée à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 $\mu\text{g/ml}$), dont l'équation obtenue les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EAG/mg MS}$).

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes du dosage des polyphénols. La droite de régression obtenue est : $y = 11,161 x - 0,03$, avec $R^2 = 0,9$.

3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits (Djeridane *et al.*, 2006).

A 1 ml de la solution de chaque extrait, est ajouté à 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2%. Après 10 min de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 $\mu\text{g/ml}$) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg MS}$). La droite de régression obtenue est : $y = 0,0224 x - 0,0037$, avec $R^2 = 0,992$.

3.3. Dosage des tanins condensés

Selon Price *et al.* (1978), les tanins condensés sont déterminés par une méthode qui est basée sur la capacité de la vanilline en milieu acide pour produire un complexe coloré qui est lu à 500 nm.

400 μl de l'extrait végétal est ajouté 3 ml de vanilline (4%), ainsi que 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl). Après 15 min d'incubation à une température ambiante, l'absorbance est mesurée à 500 nm.

La concentration des tanins condensés est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide tannique 1g/l. La droite de régression obtenue est : $y = 0,4287 x + 0,0014$, avec $R^2 = 0,995$.

3.4. Dosage des anthocyanes totaux

Selon Ribéreau-Gayon et Stonestreet (1965), le dosage des anthocyanes d'un extrait végétal s'effectue en utilisant deux propriétés dues à leurs structures : la modification de leurs couleurs en fonction du pH, la transformation en dérivés incolores sous l'action de certains réactifs comme les ions bisulfite.

Ainsi, la variation de l'absorbance mesurée à 520 nm après l'addition d'ions bisulfite en excès, est proportionnelle à la teneur en anthocyanes.

0,5 ml de l'extrait végétal est mélangé avec 0,5 ml de la solution d'éthanol (une solution d'éthanol à 95% acidifiée à 0,1% avec de l'acide chlorhydrique pur (HCl)) et 10 ml de la solution d'HCl 2%.

1^{ère} lecture : 2,5 ml de mélange avec 1 ml d'eau distillée.

2^{ème} lecture : 2,5 ml de mélange avec 1 ml de bisulfate de sodium à 150 g/l.

4. Étude de l'activité antioxydante

L'objectif de l'étude antioxydante est d'estimer l'efficacité des composés phénoliques extraits de la plante *Z. lotus* sur le piégeage des radicaux libres.

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est un test de piégeage du radical libre, et généralement le réactif le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité du protocole.

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH, 100 µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations de (0.5 à 5 mg/ml) sont ajoutés à 1,90 µl de la solution méthanolique du DPPH. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1,90 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante (Tekao *et al.*, 1994),.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme antioxydant standard de 10 à 640 µg/ml. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

% d'activité antiradicalaire = $[(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$

Abs : absorbance

Dans ce test on définit la concentration effective à 50%, IC50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de DPPH. Les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

5. Analyse statistique

Les valeurs des paramètres étudiés ont été exprimées sous forme de moyennes \pm écart type. La comparaison entre les échantillons a été effectuée par l'analyse des variances (ANOVA) à deux facteurs, suivie du test de Tukey si le résultat est significatif. Ces analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel Statistica 10, le seuil de signification est de 0,05 à 0.001.

Partie III

Résultats et discussion

1. Les métabolites secondaires

1.1. Les polyphénols

Les résultats des polyphénols sont représentés par la figure 05 qui montre les différents extraits (aqueux, méthanolique et éthanolique) du fruit de *Z. lotus* par apport aux 03 sites d'étude. Le même scénario est constaté au niveau des trois sites avec des teneurs décroissantes de l'extrait aqueux à l'extrait méthanolique.

Dans l'ensemble du test tous les sites confondus, les extraits aqueux sont les plus élevés, avec 4,49 à 3,73 mg EAG/g MS, suivies par l'extrait méthanolique avec 3,43 à 3,2 mg EAG/g MS) et l'extrait éthanolique avec une moyenne de 3,22 à 2,89 EAG/g MS.

L'Anova a révélé une différence très hautement significative que pour les extraits, avec $F_{(2,27)} = 9,788$; $P < 0,0001$. Le Test HSD de Tukey affiche deux groupes homogènes, un pour l'aqueux (groupe A) et le deuxième pour les extraits alcooliques (Annexe 01).

Il est connu que l'utilisation de plusieurs solvants à polarité différente permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction (Hagerman *et al.*, 2000). Les résultats que nous avons obtenus expriment bien la polarité de nos solvants qui est de 10 pour l'eau , de 5 pour le méthanol et de 4 pour l'éthanol , d'où ces deux alcools dans un même groupe homogène. Dans notre cas l'effet lieux n'a pas été ressenti. Certaines recherches, montrent que les facteurs extrinsèques tels que des facteurs géographiques et climatiques, sécheresse, nature du sol, pollution, agressions et maladies, les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en composés phénoliques (Baba Ouyoub, 2017). Si on veut comparer nos résultats avec d'autres recherches, les travaux de Zoughlache (2009) dans des échantillons du fruit de *Z. lotus* de Betna avec et 5,8 mg EQ/g MS pour l'extait aqueux et 5 et 2,34 mg EQ/g MS repectivement pour les extraits méthanoliques et éthanoliques. En Tunisie, les graines ont présenté des teneurs maximales de 4,42 mg EAG/g MS et dans les fruits entiers 2,93 mg EAG/g MS par macération dans le méthanol 70% (Yahia *et al.*, 2020). Un autre travail en Tunisie par Ghazghazi *et al.* (2014) obtiennent une valeur de 2,97 mg GAE/g Ms en extrait méthanolique pour les fruits. Selon la synthèse de Abdoul-Azize (2016) sur *Z. lotus* les polyphénols vont de 2,97 à 40,78 mg/g MS dans les fruits. Nos résultats corroborent certaines de ces travaux.

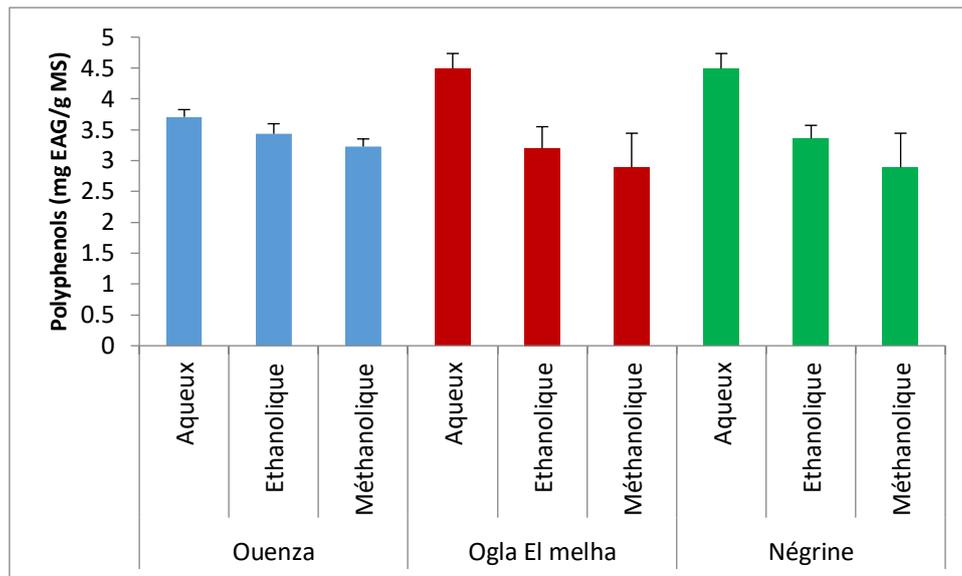


Figure 05 : Comparaison des teneurs en polyphénols en fonction des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* de troissites de Tébessa du Nord au Sud.

1.2. Les flavonoïdes totaux

La figure 06 est une comparaison des teneurs moyennes en flavonoïdes totaux du fruit de *Z. lotus* en fonction 03 solvants (aqueux, méthanolique et éthanolique) et des sites d'étude. Les résultats montrent, comme pour les polyphénols, des teneurs décroissantes, de l'aqueux au méthanolique en passant par l'éthanolique. Les extraits aqueux sont de 1,16 à 0,86 mg ECat/g MS, suivi par les extraits éthanoliques et méthanoliques avec respectivement 0,73 à 0,36 mg ECat /g MS.

L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative entre les extraits $F_{(2,27)} = 61,974$ avec $p < 0,0001$ avec deux groupes homogènes selon le test HSD de Tukey avec le premier groupe pour l'extrait aqueux et le deuxième pour les deux autres (Annexe 02).

La comparaison des sites ne montre pas d'effet significatif avec $F_{(2,27)} = 0,985$; $P = 0,386$.

Sur la base de ces résultats, la teneur en flavonoïdes dans le fruit de *Z. lotus* augmente avec la polarité de l'extrait. Les résultats de Rais *et al.* (2019), diffèrent des nôtres si l'on ne prend que la pulpe du fruit où ils obtiennent 13,036 mg EQ/g d'extrait pour le méthanolique, 5,016 mg EQ/g d'extrait pour l'éthanolique et de 1,146 mg EQ/g pour l'extrait aqueux.

La comparaison des teneurs que nous avons obtenues avec celle du fruit de *Z. lotus* des travaux de Yahia *et al.* (2020) qui ont obtenu une teneur en flavonoïdes avec l'extrait méthanolique de 0,84 mg EQ/g MS et des valeurs voisines pour Ghazghazi *et al.* (2014) avec une valeur de 1,22 mg ER/g MS en extrait méthanolique. Selon Abdoul-Azize (2016)

sur *Z.lotus* les flavonoïdes totaux sont en moyenne de 1,22 mg/g MS dans les fruits. D'après Hammoudi (2015), les teneurs en flavonoïdes augmentent lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre.

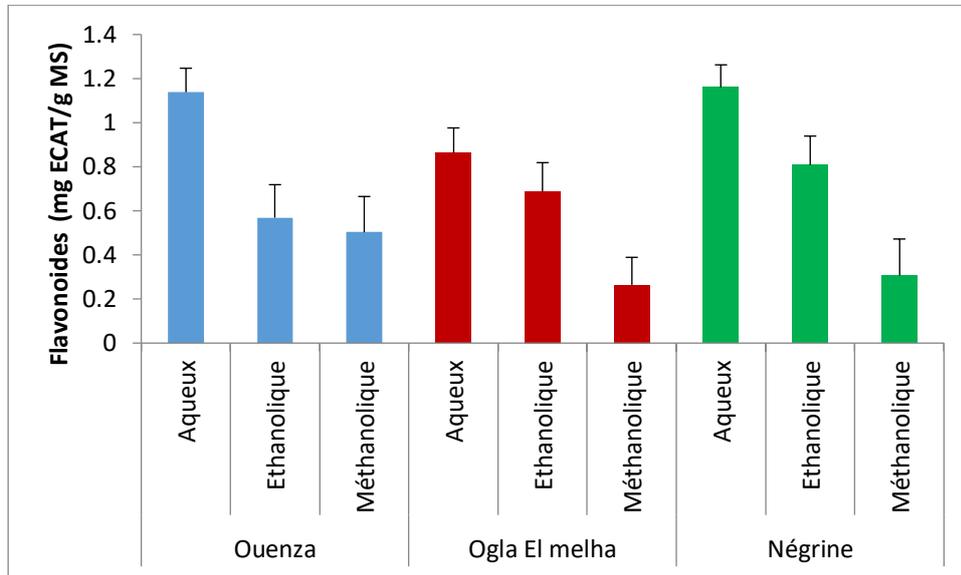


Figure 06: Comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux en fonction de différents extraits du fruit de *Zizyphus lotus* de trois sites de Tébessa du Nord au Sud.

1.3. Les tannins condensés

Les teneurs moyennes en tanins condensés révèlent que l'extrait éthanologique et le plus élevé avec 0,027 à 0,015 mg EAcT/g MS) suivit par les extraits méthnoliques avec 0,020 à 0,013 mg EAcT/g MS et de 0,010 à 0,0045 mg EAcT/g MS en extraits aqueux (Fig. 07).

L'anova a révélée une différence très hautement significative entre les extraits avec $F_{(2,27)} = 61,97$; $P < 0.0001$, avec trois groupes homogènes distincts. La comparaison des sites ne ont pas d'effet significatif avec $F_{(2,27)} = 1,415$; $P = 0,260$ (Annexe 03).

Les travaux de Rais *et al.* (2019) vont dans le même sens que nos résultats avec un extrait méthanolique plus riche en tanins que l'extrait éthanologique et aqueux chez le fruit de *Z.lotus*. D'après une étude faite par Letaief *et al.* (2021), les teneurs des tanins montrent que l'extrait aqueux et plus riche en tanins que l'extrait méthanolique avec une variance de $1,02 \pm 0,10$ mg CE /g MS.

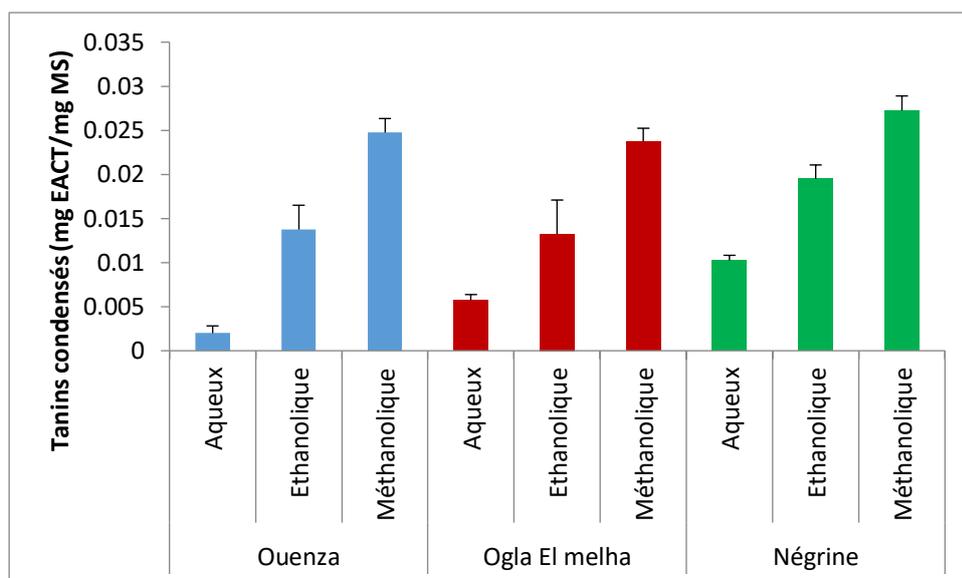


Figure 07: Comparaison des teneurs en tanins condensés en fonction des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* de trois sites de Tebessa du Nord au Sud

1.4. Les anthocyanes totaux

La figure 8 illustre les valeurs moyennes des teneurs des anthocyanes des extraits par rapport aux 3 sites d'étude. D'après les teneurs obtenus, il apparaît que l'extrait éthanolique est le plus élevé dans chaque site, allant de 1,01 à 0,29 mg/g MS. En deuxième position, nous avons entre les extraits méthanoliques et aqueux selon les sites, et moins élevés avec 0,21 à 0,08 mg/g MS. L'analyse statistique révèle des différences très hautement significatives entre extraits avec $F_{(2,27)} = 76,937$; $P > 0,0001$ avec 2 groupes homogènes d'après le test HSD de Tukey où l'extrait éthanolique est seul en un groupe.

L'analyse de la variance pour les sites montre aussi des différences très hautement significatives avec $F_{(2,18)} = 15,455$; $P > 0,0001$. Le site d'El Ouenza montre plus d'anthocyanes, classé en un groupe, suivi par une autre classe regroupant Negrine et Ogla el melha selon le test de Tukey. Il est de même pour l'interaction sites x extraits qui est très hautement significatives avec $F_{(2,18)} = 15,455$; $P > 0,0001$ et avec quatre groupes homogènes (Annexe 04).

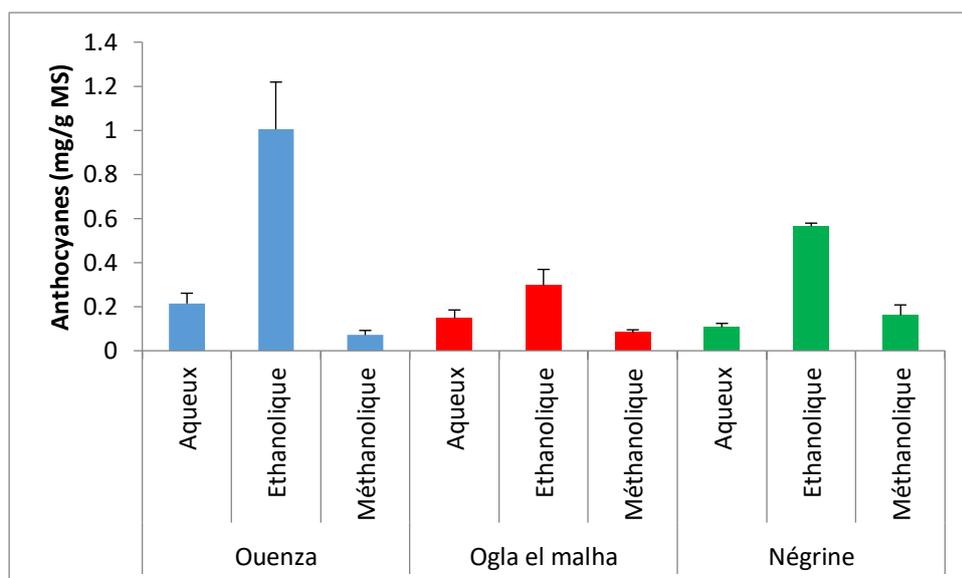


Figure 08 : Comparaison des teneurs en anthocyanes totaux en fonction des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* de trois sites de Tebessa du Nord au Sud

Les travaux sont peu nombreux sur les anthocyanes de *Zizyphus*, le travail de El Maaiden *et al.* (2018) sur un extrait méthanolique sur la graine de *Z.lotus* a donné 5,03 mg/g MS. Et, d'après une étude faite par Cadi *et al.* (2020) sur les fruit de *Z.lotus* les résultat des anthocyanes montrent que l'extrait méthanolique et l'extrait ethyl-acetate sont similaires par leur réponse avec $0,1 \pm 0,001$ mg/g MS.

Les anthocyanidines, sont particulièrement évidentes dans les tissus des fruits et des fleurs lesquelles sont responsables de la couleur rouge, notamment chez *Zizyphus*, ils participent à la protection des plantes contre l'excès de lumière en faisant de l'ombre aux cellules du mésophylle des feuilles et jouent également un rôle important en attirant les insectes pollinisateurs (Crozier, 2006).

2. Étude de l'activité antioxydante par le DPPH

Le radical DPPH• (2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre lipophile et stable qui a été généralement utilisé pour estimer l'activité antioxydante.

En analysant l'ensemble des résultats obtenus dans la figure 09, et sachant que le paramètre IC50 est inversement proportionnel à l'activité anti-radicalaire (Tableau 03), nos résultats montrent clairement que le taux d'inhibition des trois sites d'étude est inférieur à celui de l'acide ascorbique pour les trois extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux). La valeur IC50 de l'acide ascorbique est de $2,621 \pm 0,01$ µg/ml qui met les valeurs d'IC50 de

nos extraits en dessous de cette valeur. Pour l'extrait méthanolique les valeurs sont entre $3,97 \pm 0,10$ à $3,52 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$. L'extrait éthanolique affiche des valeurs de $9,51 \pm 0,09$ à $7,39 \pm 0,02$ $\mu\text{g/ml}$ et l'extrait aqueux $10,51 \pm 0,08$ à $8,53 \pm 0,12$.

Tous nos échantillons ont une activité antioxydante inférieure à la vitamine C.

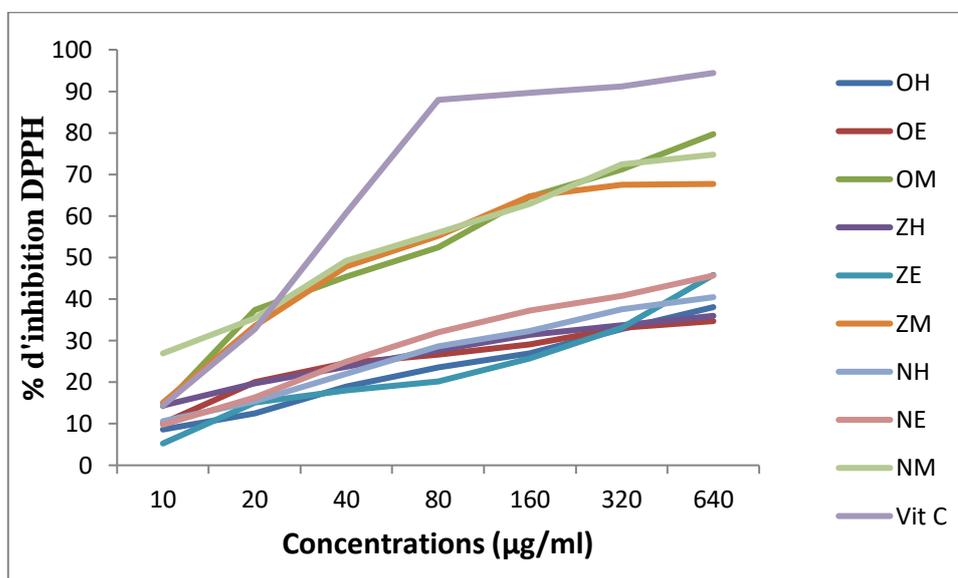


Figure 09 : Comparaison du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'acide ascorbique, des extraits aqueux (H), éthanolique (E) et méthanolique (M) du fruit de *Z. lotus* de trois régions de Tebessa du Nord au Sud , Ouenza (Z), Ogla el Melha(O) et Négrine (N).

Une étude faite par Bencheikh *et al.* (2021) a montré que l'extrait aqueux du fruit de *Z. lotus* a une activité inhibitrice contre le radical libre DPPH d'une manière dose-dépendante. La demi-concentration inhibitrice maximale de l'extrait aqueux de *Z. lotus* était de $IC_{50} = 116 \pm 0,02$ $\mu\text{g/ml}$, et celle de l'acide ascorbique est de $IC_{50} = 27,02 \pm 0,02$ $\mu\text{g/ml}$ avec un peu efficace contre les radicaux libres DPPH. Dans une autre étude faite par *et al.* (2019), les extraits éthanolique et méthanolique ont une IC_{50} de l'ordre de $0,296 \pm 0,04$ et $0,476 \pm 0,20$ mg/ml , respectivement. L'extrait aqueux a montré une valeur plus élevée de IC_{50} avec $1,196$ mg/ml .

Cela nous permet de souligner que l'extrait méthanolique était le plus actif pour tous les sites avec le meilleur pouvoir antioxydant. Les résultats de la capacité antioxydante diminuent avec l'éthanol est l'eau. La comparaison des sites montre que le site de Négrine est plus réactif.

Tableau 03 : Valeurs de l'IC50 de l'activité antioxydante DPPH de l'acide ascorbique, des extraits aqueux (H), éthanolique (E) et méthanolique (M) du fruit de *Z. lotus* de trois régions de Tebessa du Nord au Sud, Ouenza (Z), Oglá el Melha (O) et Négrine (N).

Extraits	Sites	R²	IC50 µg/ml
Méthanolique	Ouenza	0,892	3,97 ± 0,10
	Oglá el melha	0,962	3,78 ± 0,05
	Négrine	0,971	3,52 ± 0,08
Éthanolique	Ouenza	0,981	7,39 ± 0,02
	Oglá el melha	0,996	9,51 ± 0,09
	Négrine	0,981	7,39 ± 0,12
Aqueux	Ouenza	0,980	10,51 ± 0,08
	Oglá el melha	0,996	9,52 ± 0,23
	Négrine	0,989	8,53 ± 0,12
Acide ascorbique		0,953	2,621 ± 0,01

Conclusion

Conclusion

Un grand nombre de plantes médicinales sont une source inépuisable de substances bioactives, qui présentent l'avantage d'une très grande diversité structurale et possèdent des propriétés biologiques très importantes. On trouve de nombreuses applications dans divers domaines, à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture.

L'objectif de notre travail a porté sur les composés antioxydants et l'activité antioxydante de ces métabolites secondaires (composés phénoliques) du fruit de *Zizyphus lotus*, plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle, récoltée dans la wilaya de Tébessa sous l'effet d'un gradient climatique du semi aride à l'aride. De ce fait, nous nous sommes intéressés, principalement, à la détermination, par spectrophotométrie des teneurs de certaines molécules bioactives telles que les polyphénols, les flavonoïdes totaux, les tanins condensés et les anthocyanes totaux dans trois sites de la wilaya de Tébessa allant du nord au sud en choisissant trois points bien répartis tels que l'Ouenza, El Olga el melha et Négrine. Vu la différence de réponse au niveau bibliographique des composés antioxydants aux différents solvants, notre choix s'est basé sur les plus utilisés, extraits aqueux, éthanolique et méthanolique.

Les résultats obtenus pour les différents extraits ont montré que les réponses des polyphénols et des flavonoïdes étaient les mêmes avec des teneurs moyennes dans un sens décroissant de l'eau au méthanol selon leur polarité. Cependant, pour les tanins nous avons eu un sens croissant du méthanol vers l'eau (l'éthanol pour ces paramètres cités est intermédiaire) . Par contre, pour le dernier paramètre qui sont les anthocyanes, nous avons plus de teneurs dans les extraits éthanoliques suivit par les méthanoliques et en dernier l'aqueux. Les réponses pour tous les composés phénoliques testés ont eu la même réponse dans les trois sites, ceci mène à dire qu'il y a une affinité de solubilité pour chaque composé.

La différence entre les sites, qui est la clé majeure de notre sujet s'avère non significative pour les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins mais dégagant le site de Négrine avec de bonnes concentrations par rapport aux autres. Par contre pour les anthocyanes ceux-ci ont des résultats plus importants au nord, indiqué par les groupes homogènes du test HSD de Tukey.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante par l'intermédiaire de l'IC50 montrent clairement que le taux d'inhibition des trois sites d'étude est inférieur à celui de l'acide ascorbique pour les trois extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) mais le méthanolique est le plus oxydatif pouvant être lié aux tanins.

Notre contribution a montré que les extraits du fruit de *Z. lotus* à un pouvoir antioxydant important. Malgré l'importance des résultats obtenus, il ne s'agit que d'une première base de données dans la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Des tests supplémentaires seront nécessaires pour valoriser davantage la plante de *Z.lotus* de nos régions.

Références

Bibliographiques

A

- Abdoul-Azize, S., Bendahmane, M., Hichami, A., Dramane, G., Simonin, A. M., Benammar, C., ... & Khan, N. A. (2013). Effects of *Zizyphus lotus* L.(Desf.) polyphénols on Jurk at cell signaling and proliferation. *International immunopharmacology*, 15(2), 364-371
- Abdoul-Azize, S. (2016). Potential benefits of jujube (*Zizyphus Lotus* L.) bioactive compounds for nutrition and health. *Journal of nutrition and metabolism*, 2016.
- Aberkane, M. C. (2006). Etude phytochimique de la plante *Publicarialaciniata*. Thèse De Doctorat. Université -Batna. pp 166
- Amara, M., & Benabdeli, K. (2020). Potentialités écologiques de *Zizyphus lotus* et possibilités de développement durable des espaces arides: cas de la région de Naâma (Algérie). *Geo-Eco-Trop*, 44(2), 269-277.
- Asatryan, A., Tel-Zur N. (2014). Intraspecific and interspecific crossability in three *Zizyphus* species (Rhamnaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61 :215–233.

B

- Baba Aissa F. (1999). Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d'Algérie et du Maghreb— Substance végétale, Edition Librairie Moderne, Rouïba, 145p.
- Baba Ouyoub. F, (2017), Evaluation des activités biologiques des différents extraits de *zizyphus lotus* récoltée dans la région de Ghardaïa.
- Bayer, E., and Butter, K.(2000). Guide de la flore méditerranéenne, p. 280.
- Benammar, C. E. (2011). effets antioxydants et immuno-modulateurs d'une plante médicinale nord-africaine, *Zizyphus lotus* l. (sedra) : etude des différents extraits, Thèse De Doctorat. Tlemcen. pp 120.
- Bencheikh, N., Bouhrim, M., Merrouni, I. A., Boutahiri, S., Kharchoufa, L., Addi, M., ... & Elachouri, M. (2021). Antihyperlipidemic and antioxidant activities of flavonoid-rich extract of *Zizyphus lotus* (L.) lam. fruits. *Applied Sciences*, 11(17), 7788.
- Borgi W ., Recio M-C ., Rios J-L ., Chouchane N. (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, 14:320-324.
- Boukef, K . (1986) .Les Plantes Dans la Médecine Traditionnelle Tunisienne: Médecine Traditionnelle et Pharmacopée, Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France,.
- Brosse, J., (2000). Larousse des arbres et des arbustes. 1 éd. Larousse 2000, Paris .576

C

- Catoire, C., Zwang, H. Bouet C. (1999). Les jujubiers ou le Ziziphus. Fruits oubliés, article du n°1.
- Chehma, A. (2006). Catalogues des plantes spontanées du Sahara. Édition ECO-SYS, Algérie. p 123
- Chouaibi, M., Mahfoudhi, N., Rezig, L., Donsi, F., Ferrari, G., & Hamdi, S. (2012). Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6), 1171-1177.

D

- Dahlia, F., Benito, C., & Boussaid, M. (2019). Genetic diversity of fruits in wild jujube (*Zizyphus lotus* L. Desf.) natural populations from Algeria. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, 65(1), 165-183.
- Dahanukar, S. A., Kulkarni, R. A., & Rege, N. N. (2000). Pharmacology of medicinal plants and natural products. *Indian journal of pharmacology*, Vol 32(4), S81-S118.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

E

- El Maaiden, E.L., El Kharrassi, Y., Moustaid, K., Essamadi, A.K. and Nasser, B. (2018), “Comparative study of phytochemical profile between *zizyphus spina christi* and *Zizyphus lotus* from Morocco”, *Journal of Food Measurement and Characterization*, pp. 1-10, ISSN 2193-4134.

G

- Ghazanfar, S.A. (1994). *Handbook of Arabian medicinal plants*. Boca Raton: CRC Press.
- Ghazghazi, H., Aouadhi, C., Riahi, L., Maaroufi, A., & Hasnaoui, B. (2014). Fatty acids composition of Tunisian *Zizyphus lotus* L.(Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf.
- Ghedira, K., Chemli, R., Caron, C., Nuzillard, J. M., Zeches, M., & Le Men-Olivier, L. (1995). Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*, 38(3), 767-772..
- Ghost, A., Lysias D. C., 2007. Jujube Fruit: a magic fruit berry for emotion controlling and more. Pure Herb and extract processing and formation.

H

- Hammi, K. M. A. Jdey, C. Abdelly, H. Majdoub, and R. Ksouri. (2015). “Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology,” *Food Chemistry*, vol. 184, pp. 80–89.
- Hammoudi, R. (2015). Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien (Doctoral dissertation).
- Hagerman, A-E ., Muller-Harvey, I .,Makkar, H-P-S. (2000). Quantification of tannins in tree foliage. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Vienna. 26p.

L

- Laamouri, A., Ammari, Y., Albouchi, A., Dachraoui, A., & Yakoubi, M. T. (2008). Jujube Symposium 840 (pp. 315-320).
- Lahlou, M., El Mahi, M., & Hamamouchi, J. (2002, November). Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* (L.) Desf. In *Annales pharmaceutiques francaises* (Vol. 60, No. 6, pp. 410-414). Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J et Lee, C.Y., 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chem.* 51:p72-92
- Letaief, T., Garzoli, S., Laghezza Masci, V., Mejri, J., Abderrabba, M., Tiezzi, A., & Ovidi, E. (2021). Chemical Composition and Biological Activities of Tunisian *Zizyphus lotus* Extracts: Evaluation of Drying Effect, Solvent Extraction.
- Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002). *Botanique 3ème Ed : Technique et documentation*. Lavoisier .Paris. 211p. Abderrazak M. et Joël R. (2007). *La botanique de A à Z*. Ed. Dunod. Paris. 177p.

M

- Maraghni, M. G. M. N. M., Gorai, M., & Neffati, M. (2010). Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of *Zizyphus lotus*. *South African Journal of Botany*, 76(3), 453-459.
- Meissner, O. (2004). Editorial: The traditional healer as part of the primary health care team? *South African Medical Journal*. 94:901-902

- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.

- Munier, P., (1973). Le jujubier et sa culture. *Fruits*, 28(5) :377-388

N

- Najjaa, H., Ben Arfa, A., Máthé, Á., Neffati, M., (2017). Aromatic and Medicinal Plants of Tunisian Arid and Desert Zone Used in Traditional Medicine, for Drug Discovery and Biotechnological Applications. Ch.6. In: Najjaa, H., A., Máthé, Á., Neffati, M. *Medicinal and Aromatic Plants of the World – Africa*. Springer, pp157-230.

P

- Pottier, A. G. (1981). *Flora of Tunisia Angiospermes-Dicotyledones, Apetales-Dialypetales*. Programme Flore et Végétation Tunisiennes.
- Paroda, R.S., Mal, B. (1989). New plant sources for food and industry in India. In : Wickens GE, Haq N, Day P (eds). *New crops for food and industry*. Chapman and Hall, London, pp 135-149.
- Parrek, O.P. (2001). Ber. Southampton, UK: International Centre for Underutilised crops pub.
- Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 26(5), 1214-1218.

Q

- Quezel, P et Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales*. Tome 1. CNR, Paris.
- Quezel, P et Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales*. Tome 2. CNR, Paris.

R

- Rabaa, C. (2007). Le nom de l'arbre: le grenadier, le caroubier, le jujubier, le pistachier et l'arbousier. Actes du colloque le Majan, 1er Edition. France. 45-62.
- Rais, C., Driouch, A., Slimani, C., Bessi, A., Balouiri, M., El Ghadraoui, L., ... & Al Figui, J. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of pulp extracts from three populations of *Ziziphus lotus* L. *Nutrition & Food Science*.

- Ramawat, K.G., Dass, S. and Mathur, M. (2009) The Chemical Diversity of Bioactive Molecules and Therapeutic Potential of Medicinal Plants. In: Ramawat, K.G. (ed.) Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine. Springer Verlag Berlin Heidelberg.
- Ribéreau-Gayon, P., & Stonestreet, E. (1965). Determination of anthocyanins in red wine. *Bulletin de la Societe chimique de France*, 9, 2649-2652.
- Richardson, J. E., Chatrou, L. W., Mols, J. B., Erkens, R. H. J., & Pirie, M. D. (2004). Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1450), 1495-1508.
- Rsaissi, N et Bouhache, M. (2002). La lutte chimique contre le jujubier .Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD (Ed).n0 94.Rabat ,4p.

S

- Shahin Sharif, A., Naresh, K., Abhinav, L., Angad, S., Hallihosur, S., Abhishek, S et Utpal, B., 2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Journal of Food Research International*.41:p 1–15.

T

- Tardío, J., Sánchez-Mata, M. D. C., Morales, R., Molina, M., García-Herrera, P., Morales, P., ... & Boussalah, N. (2016). Ethnobotanical and food composition monographs of selected Mediterranean wild edible plants. *Mediterranean wild edible plants: ethnobotany and food composition tables*, 273-470.
- Tekao, T, Watanabe N, Yagi I, Sakata K. (1994). A simple screening method for antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci Biotechnol Biochem*; 58:1780–1783.

Y

- Yahia, Y., Benabderrahim, M. A., Tlili, N., Bagues, M., & Nagaz, K. (2020). Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from different plant parts of two *Ziziphus* Mill. species. *PloS one*, 15(5), e0232599.

Z

- Zoughlache –Djemai, S. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

Annexes

Annexe 01

Test HSD de Tukey ; variable Polyphénols totaux .Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC
Inter = ,34262, dl = 27,000

	Extraits	Polyphénols totaux	1	2
	2 (éthanol)	3,005928	B	
	1 (méthanol)	3,331915	B	
	3 (eau)	4,231102		A

Test HSD de Tukey ; variable Polyphénols totaux .Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC
Inter = ,34262, dl = 27,000

	Sites	Extraits	Polyphénols totaux	1	2
	3 (Négrine)	2	2,894902	B	
	2 (Ogla)	2	2,894902	B	
	2 (Ouenza)	1	3,200430	B	A
	1	2	3,227981	B	A
	3	1	3,359914	B	A
	1	1	3,435400	B	A
	1	3	3,707553	B	A
	3	3	4,492877		A
	2	3	4,492877		A

Annexe 02

Test HSD de Tukey ; variable Flavonoïdes totaux .Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC
Inter = ,09917, dl = 27,000

	Extraits	Flavonoïdes totaux	1	2
	2	0,507113	B	
	1	0,646920	B	
	3	1,054509		A

Test HSD de Tukey ; variable Flavonoïdes totaux .Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC
Inter = ,09917, dl = 27,000

	Sites	Extraits	Flavonoïdes totaux	1	2
	2	2	0,364107	B	
	1	1	0,519241	B	A
	3	2	0,556853	B	A
	1	2	0,600379	B	A
	2	1	0,687991	B	A
	3	1	0,733527	B	A
	2	3	0,864330	B	A
	1	3	1,138438		A
	3	3	1,160759		A

Annexe 03

Test HSD de Tukey ; variable Tanins condensés. Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00004, dl = 27,000

	Extraits	Tanins condensés	1	2	3
	3	0,002440	C		
	2	0,012356		B	
	1	0,030222			A

Test HSD de Tukey ; variable Tanins condensés. Groupes Homogènes,, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00004, dl = 27,000

	Sites	Extraits	Tanins condensés	1	2	3
	1	3	0,001952	C		
	2	3	0,002652	C		
	3	3	0,002716	C		
	2	2	0,010688	C	B	
	3	2	0,012426	C	B	
	1	2	0,013954	C	B	
	1	1	0,024515		B	A
	2	1	0,028988			A
	3	1	0,037164			A

Annexe 04

Test HSD de Tukey ; variable Anthocyanes Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 9519,1, dl = 18,000

	Sites	Anthocyanes	1	2
	2	0,176	B	
	3	0,277	B	
	1	0,430		A

Test HSD de Tukey ; variable Anthocyanes Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 9519,1, dl = 18,000

	Extraits	Anthocyanes	1	2
	3	0,105	B	
	1	0,156	B	
	2	0,623		A

Test HSD de Tukey ; variable Anthocyanes Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter
 = 9519,1, dl = 18,000

	Sites	Extraits	Anthocyanes	1	2	3
	1	3	0,071	C		
	2	3	0,083	C		
	3	1	0,107	C		
	2	1	0,148	C		
	3	3	0,160	C		
	1	1	0,214	C		
	2	2	0,297	C	B	
	3	2	0,565		B	
	1	2	1,005			A