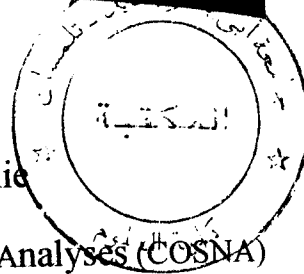




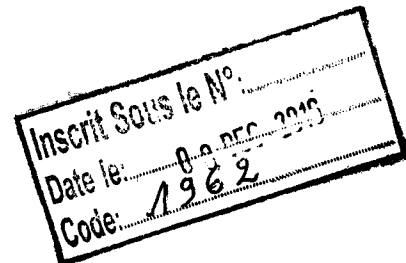
Faculté des Sciences, Département de Chimie

Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA)



MEMOIRE

Pour l'obtention de Master en
Chimie Bio-organique et Thérapeutique



Thème :

ETUDE DE LA PARTIE VOLATILE DES FEUILLES ET DES FRUITS DE
Zizyphus lotus L.

Présenté par : M^{elle} YOUNES Kawther



Soutenu devant le jury :

Pr J. KAJIMA MULENGI
Pr B. TABTI
Pr S. GHALEM
Pr O. BENSALD
Dr Z. ARRAR
Dr A. ATMANI
Dr H. ALLALI

Président
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur
Encadreur

UAB. Tlemcen
UAB. Tlemcen
UAB. Tlemcen
UAB. Tlemcen
UAB. Tlemcen
UAB. Tlemcen
UAB. Tlemcen

bibliothèque des sciences



BFS11962

Année universitaire : 2008-2009

DEDICACE

~~23 SEP 2009
36/39~~

Je dédie ce travail à :

- Mes parents ;
- Mes frères ;
- Mes grands-mères ;
- Mes amies ;



REMERCIEMENTS

Mes remerciements sincères vont à :

Dr H. ALLALI
Adjoint de Chef de Département de Chimie et Maître de Conférences à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Pr J. KAJIMA MULENGI
Directeur du laboratoire COSNA et Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Pr B. TABTI
Doyen de la Faculté des Sciences et Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Pr S. GHALEM
Vice-Doyen de la Faculté des Sciences et Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Dr Z. ARRAR
Chef de Département de Chimie et Maître de Conférences à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Dr A. ATMANI
Maître de Conférences à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Pr O. BENSALD
Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Dr S. MERIAH
Maître de Conférences à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Dr M.A. DIB
Maître de Conférences à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Pr N. BENABADJI
Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Mr D. BENDIABDELLAH
Responsable du Centre d'analyse (COSNA) et Maître Assistant à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Mr N. DJABOU
Doctorant au laboratoire COSNA.

Mr B. KHALDI
Ingénieur chimiste à l'Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen.

Tous les membres du laboratoire COSNA.



RESUME

Les huiles essentielles de *Zizyphus lotus* L. (feuilles et fruits), obtenues par hydrodistillation puis extraites avec de l'éther diéthylique, ont été analysées par les méthodes chromatographiques (CPG & CPG/SM).

Plus de 75% des composants de la fraction étherée de l'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L., ont été caractérisés. L'acide dodécanoïque (19.64%), le *n*-dodécyl acétate (18.77%) et l'acide tétradécanoïque (10.28%) représentent les composés majoritaires.

Seize composés de l'extrait étheré de l'H.E des feuilles (61.93%) ont été identifiés. Les constituants majeurs sont : le *n*-dodécyl acétate (11.48%), le 2,6-ditertiobutyl crésol (7.82%), l'acide dodécanoïque (7.46%) et l'hexadécanoate d'éthyle (7.00%).

Le pouvoir antibactérien des H.E de *Zizyphus lotus* L. a été étudié sur trois souches bactériennes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Toutes les souches bactériennes testées se sont révélées légèrement sensibles aux extraits des huiles essentielles.

Mots clés : *Zizyphus lotus* L., Rhamnacées, Huiles essentielles, Activité antibactérienne.

ABSTRACT

Essential oils from *Zizyphus lotus* L. (leaves and fruits), obtained by hydrodistillation and extracted with diethyl ether, were analyzed by the chromatographic methods (GC and GC/MS).

More than 75% of the constituents of the etheric fraction of *Zizyphus lotus* L. were characterized. The dodecanoic acid (19.64%), the *n*-dodecyl acetate (18.77%), the tetradecanoic acid (10.28%) are the predominant compounds.

Sixteen compounds of etheric extract of essential oils of the leaves (61.93%) were identified. The major constituents are: the *n*-dodecyl acetate (11.48%), 2,6-di-*tert*-butyl-Cresol (7.82%), the dodecanoic acid (7.46%) and the ethyl ester hexadecanoic acid (7.00 %).

The antibacterial activity of essential oils of *Zizyphus lotus* L. was studied on three bacterial strains: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. All the tested bacterial strains appeared to be slightly sensitive to the extracts of essential oils.

Keywords: *Zizyphus lotus* L., Rhamnaceae, Essential oils, Antibacterial activity.

ملخص

الزيوت الأساسية لنبذة زيزيفس لوتس (للاوراق و الثمار) ,المتحصل عليها عن طريق تقنية التقطير المائي, خضعت للتحليل بالطرق الكروماتوغرافية (CPG و CPG/SM) , لتحديد تركيبها الكيميائية.

أكثر من 75% من مكونات المستخلص الاثيري للزيوت الأساسية لثمار زيزيفس لوتس تم كشفها. حمض الوديكانيك (19.64%), ن, نوديسيل اسيتات (18.77%), حمض رباعي ديكانويك (10.28%) تعد من المكونات الرئيسية للمستخلص.

تم تعريف ستة عشر مركب للزيوت الأساسية لأوراق زيزيفس لوتس المتمثلة بنسبة 61.93% المكونات الغالبة: ن,نوديسيل اسيتات (11.48%), 6,2- ثنائي ترتيويوتيل كرزول (7.82%), حمض الوديكانيك (7.46%), سداسي ديكانوات الايثيل (7.00%).

قمنا بدراسة الفعالية ضد البكتيريا للزيوت الأساسية لنبذة زيزيفس لوتس على ثلاثة أنواع من البكتيريا : ستافيلوكوكاس أوريوس, ايشيريشياكولي, بسودوموناس اروجينوزا . بينت جميع الأنواع البكتيرية حساسيتها الطفيفة تجاه مستخلصات الزيوت الأساسية.

الكلمات المفتاحية: زيزيفس لوتس, النبقيات , الزيوت الأساسية, الفعالية المضادة للبكتيريا.

TABLE DES MATIERES

Dédicace.....	I	3-4 Extraction par CO ₂ supercritique....	19
Remerciements.....	II	3-5 Enfleurage.....	19
Résumé.....	III	3-6 Micro extraction en phase solide.....	20
Abstract.....	IV	4 Propriétés physiques et chimiques.....	20
ملخص.....	V	4-1 Propriétés physiques générales.....	20
Table des matières.....	VI	4-2 Propriétés chimiques générales.....	20
Préambule.....	VII	5 Propriétés médicinales.....	21
Introduction.....	1	6 Contrôle de qualité.....	21
PREMIERE PARTIE			
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE			
CHAPITRE I			
ETUDE BOTANIQUE DE <i>Zizyphus lotus</i> L.			
I Monographie de la plante.....	4	6 Localisation.....	22
1 Introduction.....	4	8 Posologie.....	22
2 Appellations locales.....	4	9 Conclusion.....	22
3 Description.....	4	Bibliographie.....	23
4 Répartition géographique.....	6	DEUXIEME PARTIE	
5 Taxonomie.....	6	ESSAIS EXPERIMENTAUX	
5-1 Rhamnales.....	6	CHAPITRE I	
5-2 Rhamnacées.....	7	EXTRACTION ET CARACTERISATION DE LA	
5-3 Angiospermes.....	7	PARTIE VOLATILE DE <i>Zizyphus lotus</i> L.	
5-4 Mono et dicotylédones.....	8	I Extraction de la partie volatile de <i>Zizyphus</i>	
II Travaux antérieurs.....	8	<i>lotus</i> L.....	25
1 Données chimiques.....	8	1 Introduction.....	25
1-1 Vitamines et minéraux.....	8	2 Préparation et conservation de la plante.....	25
1-2 Glucides.....	8	3 Préparation des extraits volatils.....	25
1-3 Lipides.....	8	3-1 Hydrodistillation.....	25
1-4 Alcaloïdes cyclopeptidiques.....	9	3-2 Extraction par solvant.....	26
1-5 Saponines.....	10	II Caractérisation de l'extrait étheré de l'HE	
1-6 Autres composés.....	11	de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	27
2 Données pharmacologiques.....	12	1 Analyse chimique des extraits volatils.....	27
2-1 Activité anti-inflammatoire.....	12	1-1 Analyse par CPG.....	27
2-2 Activité analgésique.....	12	1-2 Analyse par CPG/SM.....	28
2-3 Activité anti ulcéreuse.....	12	2 Identification des constituants des H.E.....	29
2-4 Activité antifongique et		3 Discussion des résultats.....	31
molluscicide.....	12	Bibliographie.....	33
2-5 Activité antibactérienne.....	13	CHAPITRE II	
Bibliographie.....	14	ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS	
CHAPITRE II			
LES HUILES ESSENTIELLES			
1 Définition.....	16	D'H.E DE <i>Zizyphus lotus</i> L.	
2 Composition chimique.....	16	1 Introduction.....	34
3 Procédés d'extraction.....	17	2 Culture des micro-organismes.....	34
3-1 Distillation à vapeur.....	18	3 Méthodes de détermination de l'activité	
3-1-1 hydro distillation.....	18	Antimicrobienne.....	34
3-1-2 entraînement à la vapeur... ..	18	3-1 Antibiogramme.....	34
3-2 Expression à froid.....	18	3-2 Micro atmosphère.....	35
3-3 Extraction par solvant.....	18	4 Tests antibactériens.....	35
		Bibliographie.....	37
		Conclusion générale.....	38
		Annexes.....	39

PREAMBULE

Ce document est divisé en deux grandes parties scindées chacune en deux chapitres.

Le premier chapitre de l'étude bibliographique est consacré à la description de la plante : Appellations locales, répartition géographique et taxonomie. Vient, ensuite, une présentation des travaux antérieurs sur la chimie et la pharmacologie de *Zizyphus lotus* L.

Le deuxième chapitre définit les huiles essentielles et résume, succinctement, les différentes techniques employées pour leur extraction. Parmi les techniques décrites, nous avons utilisé l'hydrodistillation dans nos essais expérimentaux.

Dans la deuxième partie, le premier chapitre contient une description des procédés employés pour atteindre l'objectif assigné, à savoir la caractérisation chimique des extraits étherés des huiles essentielles des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus* L.

Le deuxième chapitre regroupe des notions théoriques sur les activités biologiques et les résultats des tests antibactériens réalisés.

La conclusion générale fait le point sur les résultats obtenus et ouvre la voie sur les perspectives d'avenir et appelle à une poursuite de travaux sur cette espèce.

Enfin, les différents chapitres de cette étude se terminent par une bibliographie sur laquelle s'appuie notre travail.

Il faut, aussi, signaler que les moyens matériels mis à notre disposition par les équipes du laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA) de l'Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen- comptent parmi les facteurs déterminants pour la réussite de cette étude.

INTRODUCTION GENERALE

Depuis sa création, l'homme s'est nourri et soigné avec des plantes sauvages. Les plantes étaient et sont toujours les meilleurs remèdes et les meilleures sources alimentaires (Schneider A., 1998).

Les plantes sont, non seulement, de gracieux symboles, elles nous offrent de précieux enseignements, car les lois qui régissent leur vie sont analogues à celles qui régissent la nôtre. Que de secret ne pourrions-nous donc pas puiser chez elles. Ce sont de vraies panacées, des pharmacies naturelles que la providence a établi sur cette terre pour prévenir nos maux, ou pour les guérir (Beloued A., 2001).

A cause du coût élevé des produits pharmaceutiques de synthèse, la plupart des populations mondiales ne sont pas en mesure de s'offrir les soins de santé modernes, et c'est pourquoi elles se tournent vers la médecine populaire et les plantes médicinales, ou simples¹, pour se soigner (Small E., Catling P.M., 2000, Garreta R., 2007, Boisvert C., 2003).

Les plantes sont répandues sur une grande partie des terres immergées de notre planète et c'est grâce à l'expérience et l'intelligence humaine que de nombreuses plantes sont reconnues et nommées. Peu à peu, leur nombre s'est accru et leur mode d'emploi a été constamment amélioré grâce à la transmission orale des connaissances au cours des millénaires (Girre L., 2006).

Les progrès techniques dans les traitements allopathiques ont permis d'excellents résultats, mais ils ont entraîné un certain nombre d'effets secondaires, ce qui a modifié le comportement de certains prescripteurs et celui de la population, d'où la découverte de la phytothérapie². Toutefois, celle-ci n'est pas considérée comme une thérapie douce (Charpentier B., 2008). Elle est, d'une part, populaire car elle utilise les plantes selon les vertus découvertes par des gestes routiniers. D'autre part, clinique car elle est basée sur les avancées en matière de recherches des extraits actifs des plantes (Schmitz O., 2006, Scimeca D., 2006).

C'est la volonté de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes que les traditions humaines, à travers des millénaires, ont su développer l'utilisation des plantes à des fins curatives (Encyclopédie des plantes médicinales, 2001). Ce sont les chimistes qui firent faire aux plantes médicinales un pas de géant après avoir isolé de véritables principes actifs (Girre L., 2006).

Les plantes médicinales contiennent une grande diversité de composés différents. Parmi lesquels certains peuvent exercer une activité biologique, de sorte que le risque d'assister à des effets secondaires, parfois même toxiques, est réel. En outre, étant donné que dans les plantes, le principe actif n'est présent qu'à de faibles concentrations, nous devons nous attendre à ce que ces remèdes naturels soient moins actifs que le composé pur (Scimeca D., 2006, Patrick G.L., Depovere P., 2002).

¹ Le terme 'simple' désignant un médicament constitué d'une seule substance, est l'abréviation de simple médecine. A partir du XV^{ème} siècle, le mot 'simple' devient le nom générique des plantes médicinales.

² La phytothérapie : ce terme, dérivé du grec *phyton* : plante, *therapeuein* : soigner, désigne l'art de guérir en recourant aux seules plantes. Autrement dit : c'est le traitement de diverses maladies en faisant appel aux principes actifs de certaines plantes.

Les progrès de la chimie d'extraction puis de la chimie de synthèse ont permis d'obtenir des principes actifs à l'origine des actions thérapeutiques (Roux D., 2005, Girre L., 2006). Ainsi, les huiles essentielles (H.E), extraites des plantes par distillation, comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie (Encyclopédie des plantes médicinales, 2001).

Les extraits végétaux sont devenus, pour ainsi dire, une matière première alors qu'auparavant les organes des plantes étaient utilisés dans leur ensemble sans différencier les composants chimiques. La connaissance des effets thérapeutiques nous montre que le parcours des hommes en vue d'obtenir les médicaments actuels a été très lent (Girre L., 2006).

C'est ainsi qu'une science a vu le jour : l'aromathérapie³ qui devrait, en général, être considérée comme un traitement d'appoint et non comme un traitement de substitution aux soins classiques (Ernst E., 2005). Cette dernière met en valeur la composition des H.E et leurs propriétés médicinales avec des techniques scientifiques de laboratoire. Une H.E est un complexe de molécules plus ou moins connues dans le domaine médical. Actuellement, plusieurs spécialités de médicaments en contiennent, surtout, comme principe actif (Zhiri A., 2006, Boullard B., 1997). Pour ainsi dire, personne ne peut nier les vertus des H.E.

Pour notre part, nous souhaitons contribuer à la valorisation de *Zizyphus lotus* L. de la région de Tlemcen. Pour ce faire, nous voulons réaliser une caractérisation chimique des huiles essentielles de la partie aérienne (fruits et feuilles) par CPG et CPG/SM. Cette étude sera poursuivie d'une évaluation de leur activité antimicrobienne.

³ L'aromathérapie : branche de l'art médical mettant à profit l'activité des essences naturelles (et de leurs constituants) contre les germes responsables de certaines maladies infectieuses.

BIBLIOGRAPHIE

- Beloued A., Plantes médicinales d'Algérie, Ed. Office des Publications Universitaires (OPU), 2001, p.4.
- Boisvert C., Plantes et remèdes naturels, Ed. Aubanel, 2003, p.20.
- Boullard B., Plantes et champignons, Ed. Estem, Paris, 1997, p. 63.
- Charpentier B., Hamon-Lorleac'h F., Harlay A., Ridoux L. Guide du préparateur en pharmacie, Ed. Elsevier Masson, 2008, p.1172.
- Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins, Larousse, 2001, p.9-14.
- Ernst E., Pittler M.H., Médecines alternatives : le guide critique, Ed. Elsevier Masson, 2005, p. 36.
- Garreta R., Des simples à l'essentiel: De l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales, Presses Univ. du Mirail, 2007, p.1.
- Girre L., Les plantes et les médicaments, Ed. Delachaux et Niestle, 2006, p.1.
- Patrick G.L., Depovere P., Chimie pharmaceutique, Ed. De Boeck Université, 2002, p.190.
- Roux D., Les nouvelles plantes qui soignent, Ed. Alpen s.a.m, 2005, p.16-26-27.
- Schmitz O., Les médecines en parallèle, Ed. Karthala, 2006, p.261.
- Schneider A., La pharmacie verte (se soigner par les plantes), les éditions de l'homme, 1998, p.19-21.
- Scimeca D., Les plantes du bonheur: Le coup de pouce des plantes contre tous les coups de blues, Ed. Alpen s.a.m, 2006, p.10-11.
- Small E., Catling P.M., Les cultures médicinales canadiennes, NRC Research Press, 2000, p.2.
- Zhiri A., Science, nutrition, prévention et santé, Nutra news, 2006, p.2.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : ETUDE BOTANIQUE DE *Zizyphus lotus* L.

I- Monographie de la plante

1- Introduction

Très connu pour ses propriétés en médecine traditionnelle comme émollient pectoral pour traiter la gorge et les irritations broncho-pulmonaires (Borgi W. et coll., 2008, Le-Floc'h E., 1983), *Zizyphus lotus* L. est assez commun en Algérie et ses fruits, longtemps ignorés, sont ceux dont se nourrissaient les anciens peuples de l'île des Lotophages que, suivant Homère, ils acquièrent la douceur du miel (Couverchel J.F., 1852).

2- Appellations locales

Sedra (السدرة), djerdjer (جرجر), azar (أزار), n'beg (النبق) (Baba Aissa F., 2000).
Le nom arabe de *Zizyphus lotus* L. est zizouf (Gledhill D., 2002, Ray P.K., 2002).

3- Description (Arbonnier M., 2002)

Partie de la plante	Description
Rameau	Pubescent devenant glabre, gris ou blanchâtre, avec des entre-nœuds espacés de moins de 1 cm.
Epines	Disposées par deux à l'aisselle des feuilles, plus ou moins droites et effilées. L'une orientée vers le haut, atteint 1.8 cm de long, l'autre, orientée vers le bas, est un peu plus courte.
Ecorce	Grise à brune, à tranche rose ou rouge.
Pétiole ¹	De 0.1-0.2 cm de long.
Nervation	Palmée à la base, à trois nervures ² basales, puis les deux nervures extérieures portant chacune 4-7 nervures tertiaires saillantes, arquées et plus ou moins parallèles entre elles.
Inflorescence ³	Fascicule de 2-3 fleurs ou fleur solitaire disposée à l'aisselle ⁴ des feuilles.

¹ Pétiole : axe, support de la feuille, reliant le limbe au rameau.

² Nervures : lignes parcourant un organe végétal (feuilles, pétales, etc.) ; la nervure centrale de la feuille partage le limbe en deux en prolongeant le pétiole.

³ Inflorescence : ensemble de fleurs groupées en capitule, en épi, en ombelle, en cyme, en grappe...

⁴ Aisselle : point d'insertion d'une feuille à la tige.

Fig. 1: Feuilles de *Zizyphus lotus* L.

Feuilles : Alternes¹, suborbiculaires, ovales oblongues² ou elliptiques, de 0.5-1.5 x 0.4-1.3 cm, à bord finement crénelé³, à sommet apiculé acuminé⁴, à base arrondie symétrique. Limbe⁵ plus ou moins glabre dessus, pubescent⁶ dessous (Fig. 1).

Fig. 2: Fleurs de *Zizyphus lotus* L.

Fleurs : Subsessiles ou courtement pédicellées, blanches jaunâtres, de 3-4 mm de diamètre, avec un calice⁷ plus ou moins pubescent à 5 dents, corolle⁸ à 5 pétales⁹. A une petite fleur succède un fruit globuleux que les indigènes appellent « n'beg » (النبق) (Fig. 2).

Fig. 3 : Arbuste de *Zizyphus lotus* L.

Arbre : Arbuste épineux et sarmenteux¹⁰ ou buisson, atteignant 1-2 m de haut (Fig. 3).

Fig. 4 : Fruit de *Zizyphus lotus* L.

Fruit : Drupe¹¹ globuleuse, glabre, de 0.8-1 cm de diamètre, ocre orangé à maturité, contenant un gros noyau noyé dans une pulpe plus ou moins farineuse (Fig. 4).

¹ Alterne : organe placé dans un sens opposé et à un niveau différent par rapport à un autre, sur une tige ; se dit habituellement des feuilles. Contraire : opposé.

² Oblong (gue) : ovale allongé et obtus aux extrémités.

³ Crénelé(e) : se dit habituellement des feuilles bordées de dents arrondies.

⁴ Acuminé(e) : organe terminé d'une fine pointe.

⁵ Limbe : partie mince, chlorophyllienne, formant la feuille. Le limbe est divisé en deux parts par la nervure centrale.

⁶ Pubescent (e) : couvert de poils courts et doux au toucher.

⁷ Calice : enveloppe extérieure de la fleur, formée de sépales libres ou plus ou moins soudés entre eux.

⁸ Corolle : ensemble de pétales indépendants ou plus ou moins soudés entre eux, généralement colorés en blanc, jaune, rouge, bleu...

⁹ Pétale : pièce de la corolle ; le nombre de pétales varie suivant le genre, l'espèce et la variété.

¹⁰ Sarmenteux (euse) : plante, tige, rameau longs, ligneux, flexibles, grimpants (non volubiles) ayant besoin d'un support pour les retenir.

¹¹ Drupe : fruit charnu renfermant un noyau (graine protégée par une coque dure).

4- Répartition géographique

Zizyphus lotus L. est très répandu dans toutes les parties de l'Algérie (Daumas E., De Chancel A., 1848).

Cet arbuste exige un climat plus chaud pour fleurir et fructifier (Couverchel J.F., 1852). C'est la raison pour laquelle Les climats de l'Asie et de l'Amérique tropicales lui conviennent (Catoire C et coll., 1999).

Il croit en Afrique, dans les parties intérieures, et surtout dans le nord (D'Orbigny C.D., 1861), dans les broussailles des coteaux (Chancrin et Dumont, 1922). Il est, aussi, commun dans les oasis du désert (Lee Greene E., 1983).

L'arbuste de *Zizyphus lotus* L. est fréquent en Syrie, en Tunisie, en Sicile, au Portugal (D'Orbigny C.D., 1861, Chaker S., 2004), dans le sud de l'Espagne et le sud de l'Italie (Hanelt P. et coll., 2001).

Zizyphus lotus L. est une espèce méditerranéenne et subtropicale, commune du littoral au Sahara septentrional (Baba Aissa F., 2000, Rendle A.B., 1925).

5- Taxonomie

La place de *Zizyphus lotus* L. dans la taxonomie botanique est la suivante :

Tableau 1: Position taxonomique de *Zizyphus lotus* L.

Taxonomie	Description
Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous Classe	Dialypétales
Série	Disciflores
Sous série	Isosténones
Ordre	Celastrales
Famille	Rhamnacées
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i>

5-1- Rhamnales

L'ordre des Rhamnales est très homogène et dès lors, la plupart des botanistes sont d'accord quand à sa délimitation et quand à sa division en trois familles : Rhamnacées, Vitacées, Lécacées.

Ce sont des plantes en grande majorité ligneuses dont les inflorescences sont de type cymeux¹, parfois complexe : leurs fleurs sont rayonnantes, cycliques, hypogynes, périgynes ou épigynes, pourvues d'un calice et, le plus souvent aussi, d'une corolle ; celle-ci pentamère

¹ Cyme : inflorescences constituées d'un axe principal terminé par une fleur et un ou plusieurs axes secondaires terminés également par une fleur et se ramifiant à leur tour.

ou tétramère est généralement dialypétale ; il n'y a qu'un verticille d'étamines¹, antépétales, au pollen² généralement binucléé (Encyclopaedia universalis, Volume 14, 1972).

5-2- Rhamnacées

Nous dénombrons, actuellement, cinquante-huit genres et plus de neuf cents espèces de Rhamnacées (Subhash D.C., 1988), habitant les zones tempérées et chaudes.

Les Rhamnacées sont presque toutes arbustives, quelquefois épineuses ou lianescentes, certaines espèces s'agrippant au moyen de crochets ou de vrilles³.

Les feuilles stipulées, sauf chez les *phylica*, alternes ou opposées, ont un limbe simple et indivis, comportant souvent trois ou cinq nervures longitudinales.

Les inflorescences de type cymeux, généralement axillaires⁴, sont parfois réduites à des fleurs solitaires. Les fleurs fortement protérandres et rarement unisexuées, comportant un réceptacle⁵ en forme de coupe ou de tube, sur le bord duquel s'insèrent sépales⁶, pétales et étamines, toutes ces pièces étant libres.

Les pétales, presque toujours plus petits que les sépales et pliés dans le bouton, enveloppent les anthères⁷.

Les fruits sont très variés : ce sont des drupes à un (*zizyphus*) ou à plusieurs (*Rhamnus*) noyaux, des baies⁸ ou des fruits secs : lorsque ces derniers sont indéhiscents ils montrent souvent des adaptations à la dispersion par le vent.

Les graines n'ont pas ou guère d'albumen⁹ et renferment un grand embryon (Encyclopaedia universalis, Volume 14, 1972).

5-3- Angiospermes

Les Angiospermes forment un ensemble d'environ 300.000 espèces de plantes qui sont essentiellement caractérisées par le fait qu'elles produisent des graines incluses, dès leur origine, à l'intérieur d'un fruit.

Avec la classe des Gymnospermes, dont les représentants forment des graines nues, la classe des Angiospermes constitue la division des spermaphytes ou « plantes à graines ».

Le fait que les plantules¹⁰ soient pourvues d'un ou de deux cotylédons¹¹ paraît, en lui-même, dérisoire ; mais ce critère est lié à un double cortège d'autres caractères qui ont fait

¹ Etamine : organe mâle de la fleur constitué par le filet et l'anthère.

² Pollen : grains microscopiques produits par les anthères des étamines. Le grain de pollen est porteur des gamètes mâles. Sans le pollen les carpelles restent stériles.

³ Vrille : Organe filiforme qui s'accroche en s'enroulant autour d'un support et dont sont pourvues de nombreuses plantes grimpantes.

⁴ Axillaire : situé à l'aisselle d'une feuille ou d'une bractée.

⁵ Réceptacle : partie qui porte l'ensemble des organes floraux ; sorte de socle. Dans certains cas, il peut évoluer en fruit et contenir des graines.

⁶ Sépale : organe floral, division du calice. Le calice peut être tubuleux, denté ou composé de sépales distincts. Dans certains cas, le sépale est confondu avec le pétale, lorsqu'il est coloré.

⁷ Anthère : partie terminale de l'étamine ; c'est elle qui porte le pollen.

⁸ Baie : fruit charnu renfermant généralement plusieurs graines noyées dans la pulpe, et qui ne sont pas protégées par un noyau.

⁹ Albumen : réserve nutritive qui entoure l'embryon de la graine des angiospermes.

¹⁰ Plantule : embryon de la future plante, contenu dans la graine.

¹¹ Cotylédon : lobe inséré sur l'axe de la plantule, à l'intérieur de la graine, chez les angiospermes (plantes à fleurs).

distinguer les deux sous-classes des Mono- et des Dicotylédones (Encyclopaedia universalis, Vol. 1, 1978).

5-4- Mono- et Dicotylédones

Les monocotylédones sont des plantes herbacées, sans formations conductrices secondaires, dont les nervures foliaires principales, parallèles, sont réunies par un système de nervures plus petites constituant un réseau fermé, les fleurs ont le plus souvent une symétrie trimère.

Les dicotylédones, au contraire, sont souvent arborescentes ou possèdent, en tout cas, des formations conductrices secondaires ; leurs feuilles ont une seule nervure principale ou plusieurs nervures divergentes se ramifiant en nervures de plus en plus fines, dont les derniers éléments débouchent dans le tissu foliaire lui-même, les fleurs ont souvent une symétrie pentamère (Encyclopaedia universalis, Volume 1, 1978).

II - Travaux antérieurs

1 – Données chimiques

Plusieurs études ont été menées sur *Zizyphus lotus* L. permettant l'isolation d'un grand nombre de composés

1-1- Vitamines et minéraux

L'amande du fruit de *Zizyphus lotus* L. est plus riche en oligoéléments et en vitamines que la partie comestible. En effet, l'amande contient, en quantité importante, du calcium, magnésium, manganèse et du fer.

Le fruit représente un apport nutritionnel en vitamines hydrosolubles : la thiamine, la biotine, la pyridoxine. Il constitue, également, une immense source d'antioxydants (vitamines C et E) (Mémoire Boudraa S., 2008).

1-2- Glucides

L'étude de la fraction glucidique des amandes des fruits de *Zizyphus lotus* L. montre qu'ils constituent de bons aliments énergétiques. Leur teneur importante en sucres solubles permet un apport calorique appréciable.

Le screening phytochimique réalisé sur les fruits a permis de mettre en évidence : pectine et cellulose. De plus, il révèle sa composition en sucres simples comme le glucose, le fructose et le saccharose avec des proportions différentes (Mémoire Saadoudi M., 2008).

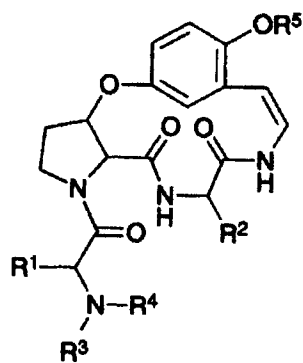
1-3- Lipides

L'étude de la fraction lipidique contenue dans les pulpes de *Zizyphus lotus* L. montre qu'elles renferment une faible quantité en matière grasse ne dépasse pas 1%. D'autre part, les amandes sont assez riches en huile. Ceci leur confère un potentiel oléagineux très intéressant.

L'identification des acides gras constituant des huiles végétales brutes des amandes a été possible grâce à CPG/SM. Cette dernière a permis de déduire leur richesse en acide oléique $C_{18} : \Delta^9$, acide linoléique $C_{18} : 2\Delta^{9,12}$. Cette composition riche en acide oléique rend ces huiles plus résistantes à la chaleur (Mémoire Ferhat R., 2008).

1-4- Alcaloïdes cyclopeptidiques

Plusieurs travaux portant sur la chimie de *Zizyphus lotus* L. mentionnent l'extraction d'alcaloïdes cyclopeptidiques. Les analyses employées pour leur caractérisation sont la RMN homo- et hétéronucléaire et la chromatographie de partage centrifuge (CPC). Ces composés sont classés en cinq types (Dimitris C. et coll., 1985).


 Fig.5 : A.C¹ de type Nummularine-C

Lotusine F
 $R^1 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$
 $R^3 = \text{H}$
 $R^4 = \text{CH}_3$
 $R^5 = \text{H}$

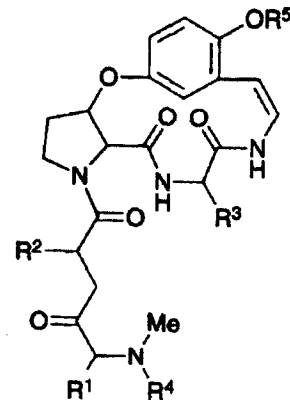


Fig.6 : A.C de type Zizyphine-A

Lotusine E
 $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 $R^2 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 $R^3 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$
 $R^4 = \text{CH}_3$
 $R^5 = \text{H}$

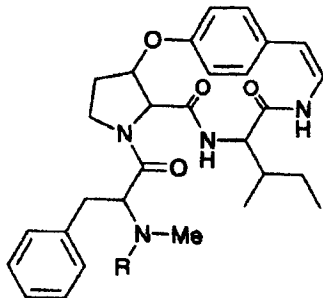


Fig.7 : A.C de type Amphibine-F

Lotusine-D
 $R = \text{H}$
 Lotusine-A
 $R = \text{Me}$

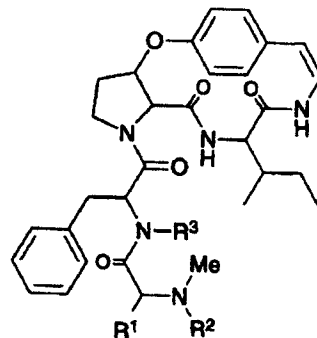


Fig.8 : A.C de type Amphibine-B

Lotusine-C
 $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 $R^2 = \text{H}$
 $R^3 = \text{CH}_3$
 Lotusine-B
 $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 $R^2 = \text{CH}_3$
 $R^3 = \text{H}$

Les lotusines A, B, C, D, E et F ont été isolés à partir des écorces des racines de *Zizyphus lotus* L. (Ghedira K et Coll., 1995, Ghedira K et Coll., 1993, Cordell G.A., 1997). Ces dernières contiennent, aussi, un autre alcaloïde cyclopeptidique, plus récemment isolé appelé lotusine G (Le Croueur G. et Coll., 2002, Ning-Hua T., Zhou J., 2006).

¹ A.C : alcaloïdes cyclopeptidiques.

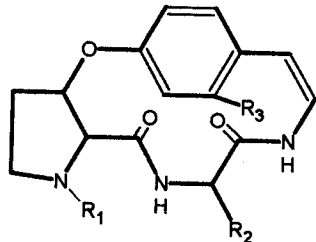


Fig.9 : Lotusine G

Lotusine G
 $R^1 = \text{Val}$
 $R^2 = \text{Ile}$
 $R^3 = \text{H}$

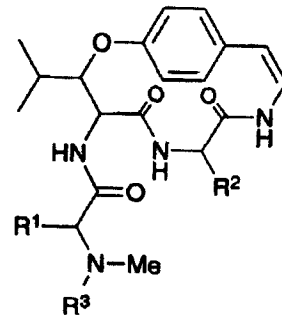


Fig.10 : A.C de type Frangulanine

Lotusanine-A
 $R^1 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$
 $R^3 = \text{CH}_3$
 Sanjoinine-F
 $R^1 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 $R^2 = \text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
 $R^3 = \text{CH}_3$

Autres alcaloïdes cyclopeptidiques :

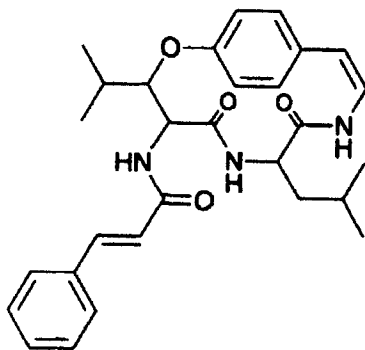


Fig. 11 : Sanjoinine

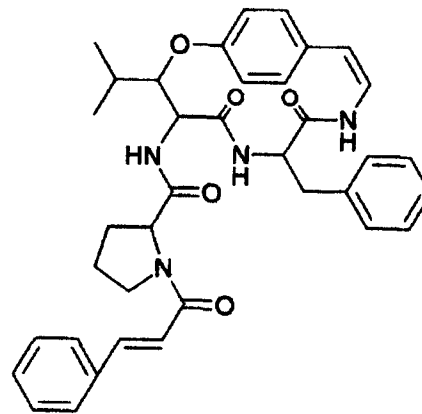


Fig. 12 : Lotusanine B

L'isolation, des alcaloïdes cyclopeptidiques : Lotusanine A, Sanjoinine F, Sanjoinine, Lotusanine B, a été effectuée à partir des parties aériennes de *Zizyphus lotus* L. (Ning-Hua T., Zhou J., 2006, Dimitris C. et Coll., 1985).

1-5- Saponines

Les études phytochimiques réalisées sur les écorces des racines de *Zizyphus lotus* L., ont permis de mettre en évidence quatre saponines de type dammarane, au moyen de la CPC.

Ces quatre saponines sont : jujuboside A, jujuboside C, lotoside I et lotoside II (Renault J.H. et Coll., 1997).

L'analyse des feuilles de *Zizyphus lotus* L. montre qu'elles contiennent cinq autres saponines de type dammarane (Maciuk A et Coll., 2004) :

- Jujuboside B.
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)- β -D-glucopyranosyl jujubogénin-20-O-(2,3,4-O-triacétyl)- α -L-rhamnopyranoside.
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-6)- β -D-glucopyranosyl jujubogénin-20-O- α -L-rhamno pyranoside.
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1-2)-[(4-sulfo)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabino pyranosyl jujubogénine.
- 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[(4-sulfo)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-galacta pyranosyl-(20R, 22R)-16- β , 22 : 16 α , 30-diepaxydammar-24-ène-3- β , 20-diol.

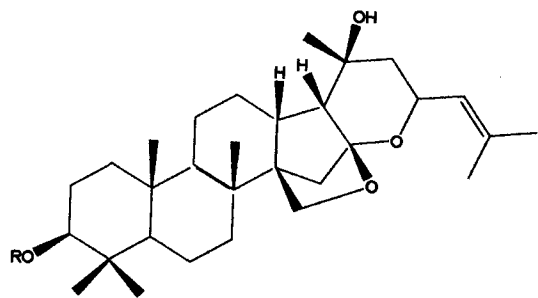


Fig. 13 : Jujubogenine (R= H)

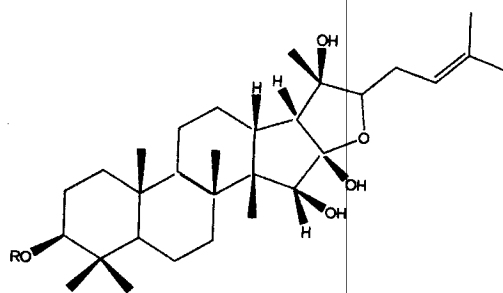
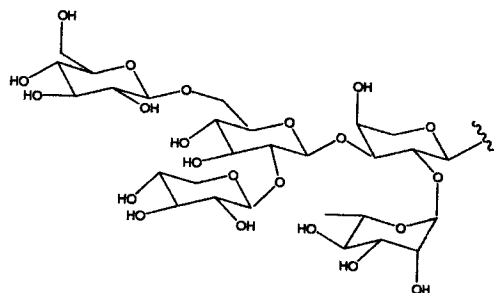


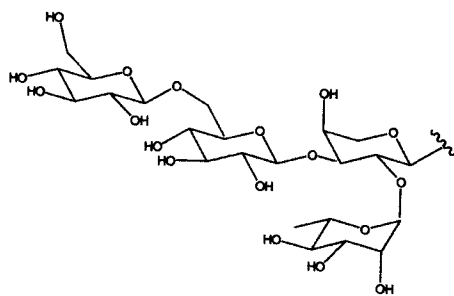
Fig. 14 : Lotogénine (R= H)

Avec :
R=



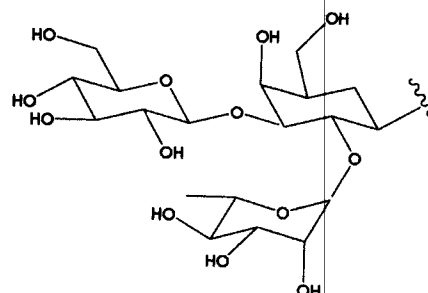
Jujuboside A

R=



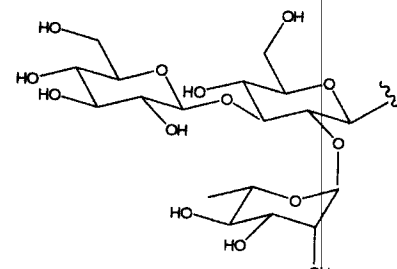
Jujuboside C

R=



Lotoside I

R=



Lotoside II

1-6- Autres composés

Une recherche approfondie sur les feuilles de *Zizyphus lotus* L. a abouti à l'isolation d'autres composés, en quantités variables, qui sont regroupés dans le tableau 2 (ماجستير الطائف طيب) :

Tableau 2 : Quelques composés caractérisés dans *Zizyphus lotus* L.

Famille de composés	Feuilles
Triterpènes	++
Stérols	+++
Coumarines	-
Tanins	++
Flavonols	+

+++ : Test très positif ; ++ Test moyennement positif ; + : test faiblement positif ; - : test négatif

2- Données pharmacologiques

2-1- Activité anti-inflammatoire

L'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux des écorces des racines de *Zizyphus lotus* L. (50, 100 et 200 mg/kg) a réduit, significativement, l'œdème de patte des rats induit par le carraghénane de l'ordre de 37.81%, 69.18% et 72.90% respectivement, trois heures après l'injection de l'agent inflammatoire.

Après l'administration intrapéritonéale de l'extrait méthanolique, une activité significative a été observée à la dose de 200 mg/kg (trois heures après l'injection de carraghénane) avec un pourcentage de 67.57%.

En revanche, aucune activité significative n'a été remarquée à la sixième heure après l'injection des extraits d'acétate d'éthyle et de chloroforme.

La présence des flavonoïdes et des saponines dans les extraits polaires (les extraits aqueux et méthanoliques) est à l'origine des effets anti-inflammatoires de *Zizyphus lotus* L. (Borgi W., Chouchane N., 2007, Borgi W et Coll., 2008, Borgi W., Ghedira K., Chouchane N., 2007).

2-2- Activité analgésique

L'évaluation de l'activité analgésique montre que l'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux de cette plante (50, 100 et 200 mg/kg), sur l'acide acétique induit chez les souris, provoque une diminution de la douleur de l'ordre de 37.82%, 64.39% et 71.57% respectivement.

De plus, l'extrait méthanolique (62.39%), et l'extrait de chloroforme (49.08%) ont montré un effet analgésique significatif, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle (19.92%) était inefficace.

L'activité analgésique de *Zizyphus lotus* L. est due à la présence, dans les extraits polaires, de flavonoïdes et de saponines (Borgi W., Chouchane N., 2007, Borgi W. et Coll., 2008, Borgi W., Ghedira K., Chouchane N., 2007).

2-3- Activité anti-ulcéreuse

Une administration orale des extraits aqueux des écorces de racines (50-200 mg/kg), des feuilles (50-200 mg/kg) et des fruits (200-400 mg/kg) de *Zizyphus lotus* L., ont produit une inhibition significative de l'ulcère aigu induit par la solution HCl/EtOH.

En effet, une inhibition significative des lésions gastriques a été observée après une administration orale des extraits méthanolique (45%), chloroformique (33%) et d'acétate d'éthyle (76%) des feuilles à la dose de 200 mg/kg.

Des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle des écorces des racines ont réduit, significativement, les lésions gastriques de l'ordre de 47% et 41% respectivement; tandis que l'extrait chloroformique n'a eu aucune activité significative (19%) (Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N., 2007).

2-4- Activité antifongique et molluscicide

Les extraits obtenus par épuisements successifs à l'éther de pétrole, au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et au méthanol se sont avérés très actifs *in vitro* vis-à-vis de neuf souches de champignons pathogènes, et des mollusques *Bulinus truncatus*.

L'extrait chloroformique s'est montré le plus actif sur l'ensemble des fongis testés à faibles concentrations en raison de sa richesse en composés triterpéniques, suivi de l'extrait à l'acétate d'éthyle. Par contre, l'extrait méthanolique, qui est riche en saponines, provoque un effet rapide et puissant sur les mollusques (Lahlou M. et Coll., 2002).

2-5- Activité antibactérienne

Les analyses chimiques réalisées sur *Zizyphus lotus* L. ont permis l'isolation de plusieurs alcaloïdes cyclopeptidiques ayant des activités antibactériennes (Renault J.H. et Coll., 1997, Joullie M.M., Nutt R.F., 1985, Pandey V.B., Devi S., 1990).

BIBLIOGRAPHIE

- Arbonnier M., Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'ouest, Seconde édition, CIRAD, 2002, p.439.
- Baba Aissa F. Encyclopédie des plantes utiles, Librairie moderne - Rouïba, 2000, p.145.
- Borgi W., Recio M.C., Rios J.L., Chouchane N., Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* L., *Journal of Botany*, 2008, 74:320-324.
- Borgi W., Ghedira K., Chouchane N. Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* L. root barks, *Fitoterapia*, 2007, 78 (1):16-19.
- Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N. Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* L. extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 112 (2):228-231.
- Borgi W., Chouchane N., Activité anti-inflammatoire des saponosides et des flavonoïdes des écorces de racines de *Zizyphus lotus* L., *Revue des régions arides*, 2007, (1):283-286.
- Boudraa S., Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. Mémoire de magister en agronomie. Université El- Hadj Lakhdar-Batna, 2008.
- Catoire C., Zwang H., Bouet C, Les jujubier ou le genre zizyphus. Fruits oubliés, 1999.
- Chaker S., Encyclopédie berbère, tome (26), Edisud, 2004, p.3980.
- Chancrin et Dumont, Larousse agricole, 1922.
- Cordell G.A., Chemistry and Pharmacology: Chemistry and Physiology, Academic Press, 1997, p.310-311.
- Couverchel J.F., Traité complet des fruits de toute espèce, Bouchard-Huzard, 1852, p.223.
- Daumas E., De Chancel A., Le grand désert, N. Chaix, 1848, p.414.
- Dimitris C., Gournelis, G.G., Laskaris, Verpoorte R. Cyclopeptide alkaloids, *Natural Products Reports*, 1985, 26:299-306.
- D'Orbigny C.D., Dictionnaire universel d'histoire naturelle, L. Houssiaux, 1861, p.159.
- Encyclopaedia universalis, Vol. 1, Editeur à Paris, 1978, p.1053-1057.
- Encyclopaedia universalis, Vol. 14, Editeur à Paris, 1972, p.230-231.
- Ferhat R., Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. Mémoire de magister en agronomie. Université El- Hadj Lakhdar-Batna, 2008.
- Ghedira K., Chemil R., Caron C., Nuzillard J.M., Zeches M., Le Menoliver L., Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus* L., *Phytochemistry*, 1995, 38 (3):767-772.

- Ghedira K., Chemil R., Richard B., Nuzillard J.M., Zeches M., Le Menoliver L., Two cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus* L., *Phytochemistry*, **1993**, 32 (6):1591-1594.
- Gledhill D., The names of plants, 3^{ème} édition, Ed. Cambridge University Press, **2002**, p.310.
- Hanelt P., Buttner V., Mansfeld R., Kilian R., Mansfeld's encyclopaedia of agricultural and horticultural crops, Springer, **2001**, p.1147.
- Joullie M.M., Nutt R.F., In alkaloids, chemical and biological perspectives, S.W. Pelletier. John Wiley, New York, **1985**, p.122.
- Lahlou M., El Mahi M., Hamamouchi J., Evaluation des activités antifongique et molluscicide de *Zizyphus lotus* L. du Maroc, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **2002**, 60(6):410-414.
- Le Croueour G., Thepenier P., Richard B., Petermann C., Ghedira K., Zeches-Hanrot M., Lotusine G : a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus* L., *Fitoterapia*, **2002**, 73 (1): 63-68.
- Lee Greene E., Landmarks of botanical history, Stanford University Press, **1983**, p.1009.
- Le- Floc'h E., Contribution à une étude ethnobotanique de la flore de la Tunisie. Programme Flore et Végétation Tunisienne, Publications scientifiques tunisiennes, Tunis, **1983**, p.150-151.
- Maciuk A., Lavaud C., Thepenier P., Jacquier M.J., Ghedira K., Zeches-Hanrot M., Four new dammarane saponins from *Zizyphus lotus* L., *Journal of Natural Products*, **2004**, 67(10): 1639-1643.
- Ning-Hua T., Zhou J., Plant Cyclopeptides, *Chemical Reviews*, **2006**, 106 (3):840-895.
- Pandey V.B., Devi S., *Planta medica.*, **1990**, 56:649.
- Ray P.K., Breeding tropical and subtropical fruits, Springer, **2002**, p.276.
- Renault J.H., Ghedira K., Thepenier P., Lavaud C., Zeches-Hanrot M., Le Menoliver L., Dammarane saponins from *Zizyphus lotus* L., *Phytochemistry*, **1997**, 44(7):1321-1327.
- Rendle A.B., The classification of flowering plants, Vol. 2, Cambridge University Press, **1925**, p.309.
- Saadoudi M., Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. Mémoire de magister en agronomie, Université El- Hadj Lakhdar-Batna, **2008**.
- Subhash D.C., Systematic botany, fourth edition, New Age International, **1988**, p.349.

الطاف محمد طيب. مكونات نباتي السدر و العناب من جنس الزيزيفس (العائلة السدرية او العنابية). رسالة ماجستير
بجامعة الملك عبد العزيز. **2006**.

CHAPITRE II : LES HUILES ESSENTIELLES

1 – Définition

Les huiles essentielles (HE) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et, plus ou moins, modifiés au cours de la préparation ».

Plus récemment, la norme AFNOR¹ NF T 75-006 (février 1998) a donné la définition suivante d'une H.E : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe² des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (par exemple, redistillation, aération, etc.) ».

Cette définition par procédé est restrictive. Elle exclut aussi bien les produits obtenus par extraction à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé (gaz sous pression, enfleurage) (Bruneton J., 1999).

2 – Composition chimique

Les composants des H.E sont génériquement dits « aromatiques » en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique. Ce qui peut prêter à confusion.

Le nombre de molécules, chimiquement différentes, qui constituent une H.E est variable. La plupart sont poly-moléculaires ; c'est à dire composées d'une grande diversité de composés. A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), nous retrouvons des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces. Il existe quelques huiles dites mono-moléculaires qui sont constituées presque exclusivement d'une molécule majoritaire.

Les H.E sont aussi homogènes ou hétérogènes dans leur composition au regard de la structure chimique des composés. Extrêmement nombreux (près de 10000 sont chimiquement définis), nous pouvons les grouper dans différentes familles de composés chimiques (Cécile Pibiri M., 2006).

Ainsi, les aromathérapeutes pensent que de nombreux constituants des H.E peuvent se combiner synergiquement en donnant un effet thérapeutique (Kayne S.B., 2002).

Les composés des H.E ont une masse moléculaire relativement faible (terpènes : 136 u.m.a³, terpénols : 154 u.m.a, et sesquiterpènes : 200 u.m.a.), ce qui leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives.

¹ AFNOR : Association Française de Normalisation, Tour Europe, Cedex 7 - 92080 Paris.

² Epicarpe : Partie externe du fruit, peau qui recouvre la pulpe.

³ U.M.A : unité de masse atomique.

La structure des composés des H.E est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est, souvent, présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène (O), pour quelques groupes fonctionnels azotés -N ou soufrés -S.

Cette structure varie en fonction :

- Du nombre d'atomes de carbone qui la constitue (les monoterpènes C_{10} , les sesquiterpènes C_{15} , et plus rarement diterpènes C_{20}).
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons.
- De leur agencement : linéaire ou cyclique.
- De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...).
- De la nature des groupes fonctionnels : Terpènes, alcools terpéniques, cétones, phénols, aldéhydes, esters, éthers (Cécile Pibiri M., 2006).

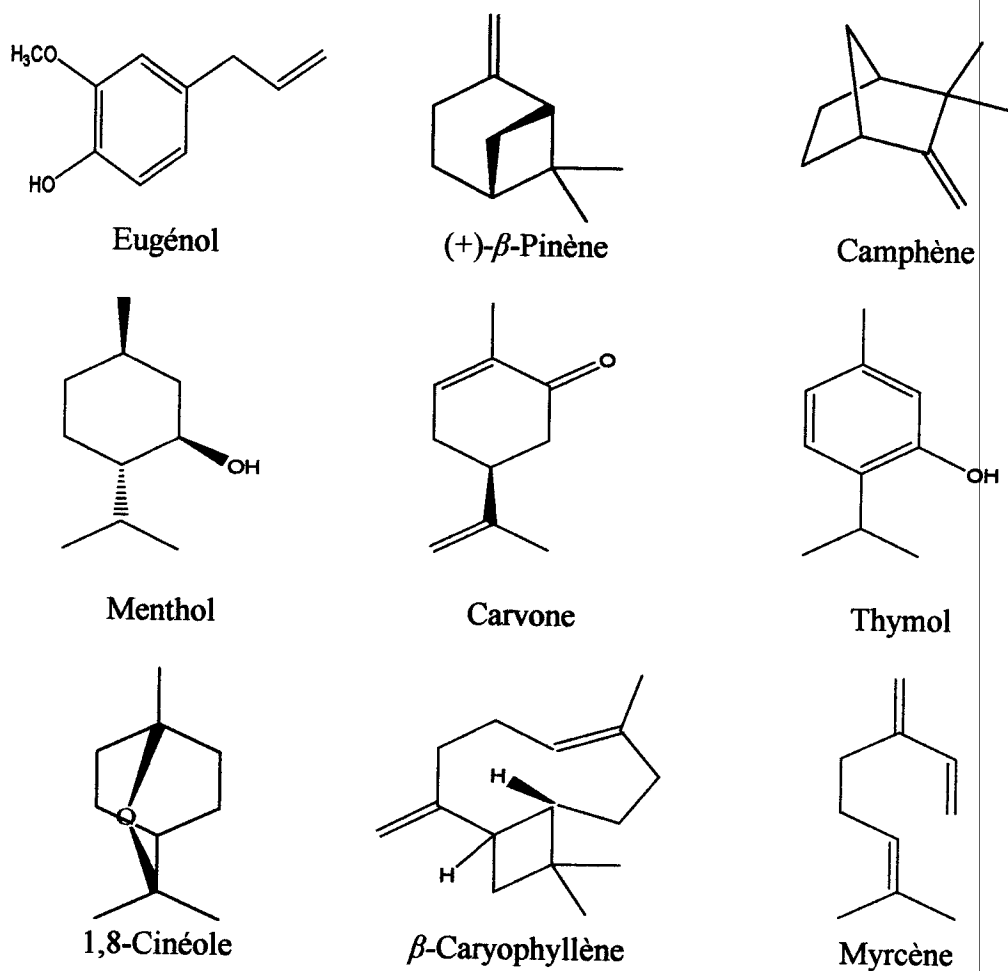


Fig.15 : Structure chimique de quelques composés extraits des H.E.

3 – Procédés d'extraction

Plusieurs livres de référence couvrent les méthodes d'extraction de façon plus détaillée. Pour ma part, je donnerai un résumé succinct de chacune des six principales méthodes utilisées dans l'industrie.

3-1- Distillation à vapeur

Cette méthode est le procédé d'extraction le plus commun. Elle est, plus généralement, utilisée pour des extractions à l'échelle industrielle, mais a, aussi, une utilisation répandue dans les laboratoires (Atta-Ur R., 2003).

Cette technique est, habituellement, effectuée de deux façons légèrement différentes :

3-1-1- *Hydrodistillation* : un mélange de matière végétale-eau est porté à ébullition. Le distillat est rassemblé et l'huile est, alors, séparée de l'eau (Linskens H.F. et Coll., 1997).

3-1-2- *Entraînement à la vapeur* : Le montage à distiller comporte deux ballons : l'un contient l'eau et l'autre, la plante à extraire. La vapeur générée par l'eau en ébullition dans le premier ballon, imprègne et traverse le second contenant la matière végétale, dissout et vaporise les molécules aromatiques, puis les entraîne dans un réfrigèrent.

La vapeur d'eau se condense et revient à l'état liquide. Elle est alors recueillie dans un nouveau récipient, où elle va se partager en deux couches distinctes. En haut surnage l'H.E de densité peu élevée, en bas se rassemble l'hydrolat aromatique (Scimeca D., Tetau M., 2002).

La température d'ébullition d'eau est plus élevée que le point d'ébullition de la plupart des huiles, donc elles sont converties en vapeur, et peuvent alors être refroidies dans un condenseur et rassemblées. La température de vapeur ne doit pas être si haute pour détruire les plantes ou brûler les H.E (Wilson R., 2002).

Bien que le processus est très efficace, la chaleur appliquée peut causer des saponifications, isomérisations, hydrolyse des doubles liaisons ou autres réactions indésirables, qui peuvent affecter l'odeur ou la saveur de l'H.E originale, ou de produire des substances non, originalement, trouvées dans la plante (Bowles E.J., 2003).

3-2- Expression à froid (ou extraction par pression à froid).

Cette technique est utilisée pour extraire les H.E des agrumes comme, par exemple, la bergamote, le citron, l'orange, le pamplemousse et la mandarine. Il s'agit d'un procédé mécanique dans lequel le fruit entier est pressé pour laisser couler le jus de la pulpe et libérer les H.E des poches. Par centrifugation, nous séparons l'H.E du jus de fruit (Wilson R., 2002, Revuz J., 2009).

La pression à froid produit une huile dont l'odeur est très proche que celle de la pelure du fruit (Bowles E.J., 2003).

3-3- Extraction par solvants

C'est une autre méthode d'extraction utilisée sur des plantes délicates. Elle rapporte une très grande quantité d'H.E à coût bas (Wilson R., 2002).

Les types de solvants utilisés sont : les hydrocarbures comme l'hexane, l'éther comme l'éther diéthylique, les alcools comme le méthanol et l'éthanol (Bowles E.J., 2003).

Dans ce processus, un solvant est utilisé pour saturer la plante et retirer les composés aromatiques, ce qui donne une substance appelée : la concrète qui est dissoute dans l'alcool pour enlever le solvant. Quand l'alcool s'évapore, il nous reste une absolue. (Wilson R., 2002).

Parmi les inconvénients de cette méthode, nous pouvons citer :

1 - La contamination de la matière végétale avec le solvant, qui doit être complètement enlevé, soit pour caractériser les qualités olfactives des huiles, soit pour étudier son activité biologique (Atta-Ur R., 2003).

2 - Les résidus de solvant peuvent rester dans l'absolue et peuvent causer des effets secondaires. L'absolue¹ et la concrète² peuvent être excellentes pour les parfums, mais elles ne sont pas désirables pour les applications thérapeutiques et les soins de la peau (Wilson R., 2002).

3-4- Extraction par CO₂ supercritique

L'extraction au fluide supercritique est une méthode d'extraction modérée. Son inconvénient est la dégradation des composants d'HE durant l'extraction (Linskens H.F. et Coll., 1997).

Les plantes sont placées à l'intérieur d'un réservoir en acier inoxydable où est, ensuite, introduit le CO₂ sous haute pression. Ce dernier se transforme en liquide et agit comme un solvant pour extraire les H.E. Quand la pression diminue, le CO₂ se transforme en un état gazeux, ne laissant que l'H.E dans le réservoir.

Des études montrent que cette technique produit des H.E très puissantes et ayant de grands avantages thérapeutiques. Cette méthode d'extraction utilise des températures plus basses que la distillation à vapeur, et produit, avec des rendements performants, des gommes et des résines que nous pouvons facilement manipuler (Wilson R., 2002).

3-5- Enfleurage³

C'est un procédé d'extraction très sophistiqué. Les fleurs comme le jasmin et le tubérose ont une petite quantité d'H.E. Elles sont, si délicates, que le chauffage de celles-ci détruit les fleurs avant la sortie des H.E.

Dans ce processus, les pétales de fruits sont placés sur des plateaux d'huile végétale ou de graisse animale, qui absorbent les H.E des fleurs. Chaque jour, après que l'huile végétale ou la graisse aient absorbé autant d'H.E que possible, les pétales épuisés sont remplacés par d'autres pétales frais.

Ce cycle d'extraction est renouvelé jusqu'à la saturation de la graisse ou l'huile végétale. L'ajout d'alcool à cette pommade sépare l'H.E de la substance grasse. Après l'évaporation d'alcool, il nous reste que l'H.E (Wilson R., 2002).

¹ Concrète : extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique.

² Absolue : produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, ou d'une pommade florale par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires ; l'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

³ Enfleurage : extraction des parfums des fleurs par contact avec une matière grasse.

L'inconvénient de cette technique est, d'une part, qu'elle met jusqu'à deux semaines pour prendre fin. D'autre part, elle nécessite une main d'œuvre importante. Les absolues sont donc très chères (Bowles E.J., 2003).

3-6- Micro- extraction en phase solide

La Micro-Extraction en Phase Solide (MEPS) est une nouvelle technique de préparation des échantillons (Mendham J. et Coll., 2005, Mitra S., 2003).

Le dispositif comporte une seringue particulière dans laquelle une courte fibre, fixée à l'extrémité du piston, peut sortir par l'aiguille ou y être rétractée. Cette fibre en silice poreuse, recouverte d'un adsorbant polymérique ou d'un gel de silice de type C-18, est introduite, soit dans la phase aqueuse à analyser (immersion directe), soit dans l'espace situé au-dessus de sa surface (espace de tête). Ainsi exposée, elle est, ensuite, insérée dans l'injecteur d'un chromatographe, où, par effet de la température (analyse CPG), ou d'un solvant (analyse CLHP), les analytes sont désorbés, puis séparés (Flanagan R.J. et Coll., 2008, Kolbesen B.O. et Coll., 2003, Rouessac F., Rouessac A., 2004).

L'espace de tête est un dispositif d'extraction réservé pour l'analyse des composés volatils. Ainsi, les analytes volatils sont, rapidement, extraits que les analytes semi-volatils dans le cas de l'extraction par exposition dans l'espace de tête (Pawliszyn J., 1997, Rouessac F., Rouessac A., 2004).

La quantité d'analytes adsorbés dépend de l'épaisseur de la fibre et la distribution des analytes entre la matrice de l'échantillon, l'espace de tête et la fibre. Les fibres devraient être, soigneusement, nettoyées avant leur réutilisation (Dudareva N., Pichersky E., 2006).

Ce nouvel outil présente l'avantage d'être plus simple à mettre en œuvre et de ne pas nécessiter de solvants ou d'appareillages spécifiques. De plus, les fibres sont moins chères que les autres méthodes utilisées pour l'extraction des composés volatils (Grushka B et Coll., 2004, Mitra S., 2003).

4- Propriétés physiques et chimiques

4-1- Propriétés physiques générales

Les H.E forment un groupe relativement homogène quant à leurs propriétés physiques :

- 1 – Ce sont des liquides assez mobiles.
- 2 – La coloration varie de l'incolore au brun clair.
- 3 – La densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0.850 à 0.950).
- 4 – Le point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C.
- 5 – Les H.E sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires. La solubilité est plus ou moins grande dans les alcools à différents titres ; il y a une très légère solubilité dans l'eau, de 0.30 à 0.50‰.

4-2- Propriétés chimiques générales

Elles sont neutres, mais acquièrent peu à peu une acidité. Elles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur modifie, leur point d'ébullition augmente, leur solubilité diminue. Les H.E absorbent le chlore, le brome, l'iode avec dégagement de chaleur. Elles peuvent se combiner à l'eau pour former les hydrates (Durrafourd C., Lapraz J.C., 2002).

5- Propriétés médicinales

Les H.E contiennent une infinité de substances médicinales lesquelles présentent un large champ d'applications (Balz R., 1996). Elles possèdent des vertus spécifiques, liées aux différents composants, qui sont résumées dans le tableau 3 (Baba Aissa F., 2000, Gould F., 2003).

Tableau 3 : Propriétés thérapeutiques des HE.

Lexique des propriétés	Description
Analgésique	Soulage la douleur.
Stimulante du cortex surrénal	Stimule les hormones du cortex surrénal.
Anti-allergique	Prévient des réactions allergiques.
Antibactérien	Détruit les bactéries.
Antidépresseur	Soulage la dépression.
Antifongique	Détruit les champignons.
Anti-inflammatoire	Réduit l'inflammation.
Antimicrobien	Détruit les micro-organismes.
Antioxydant	Prévient les réactions d'oxydation qui causeront le vieillissement des cellules de l'organisme.
Anti- séborrhéique	Réduit la quantité du sébum produit.
Antiseptique	Détruit les microbes.
Antispasmodique	Soulage les spasmes.
Antitoxique	Agit contre les effets de poison.
Antiviral	Détruit les virus.
Apéritif	Stimule l'appétit.
Astringent	Resserre les tissus.
Balsamique	A une action calmante.
Carminatif	Arrange le système digestif et soulage la flatulence.
Détoxifiant	Enlève les toxines du corps.
Digestif	Facilite la digestion des aliments.
Diurétique	Augmente la sécrétion urinaire.
Fébrifuge	Baisse la température.
Hémostatique	Arrête l'hémorragie.
Hypertensif	Augmente la pression sanguine.
Hypotensif	Diminue la pression sanguine par dilatation des artères.
Immuno-stimulant	Stimule le système immunitaire.
Neuro-tonique	Renforce le système nerveux.
Parasiticide	Détruit les parasites.
Relaxant	Favorise la détente.
Sédatif	Calme le système nerveux.
Stimulant	Excite des fonctions organiques et/ou psychiques, généralement, d'effet passager.
Tonique	Stimule de façon durable certains organes, ou l'organisme dans son ensemble ; reconstituant.
Vulnéraire	Guérit les blessures, les plaies et les ulcères.

6- Contrôle de qualité

La qualité d'une H.E est basée sur le genre et/ou l'espèce de la plante, le moment de la récolte de la plante, la localisation géographique de la production et le processus d'extraction utilisé (Ashton J., Cassel D., 2006).

Chaque H.E est caractérisée par un ensemble de propriétés physiques qui peuvent être utilisées pour vérifier sa pureté (Skaria B.P. et Coll., 2007).

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des H.E s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants.

La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une H.E reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés.

Une H.E pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement « végétale », contrairement aux essences synthétiques ou « identiques naturelles » intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse.

En aromathérapie, l'utilisation de tels profils est indispensable pour différencier dans une même espèce les variations chimiques induites par différents facteurs qui ont une influence sur la biosynthèse végétale, tels que l'ensoleillement, l'altitude, la nature et la composition du sol. Ils permettent de définir le CHEMOTYPE ou race chimique de l'espèce concernée.

Cette notion de chémotypes est fondamentale en aromathérapie, car les indications thérapeutiques qui découlent de ces divers éléments chimiques spécifiques peuvent être très différentes (Cécile Pibiri M., 2006).

7- Localisation

Les H.E se trouvent dans toutes les parties du végétal ; dans les poils sécréteurs des feuilles ou pétales, les cellules du parenchyme, les poches à essences, le bois, les cellules épidermiques. La teneur en H.E d'une plante est très faible : de l'ordre de 1‰ à 1% (Charpentier B. et Coll., 2008, Roquebert M.F., 2002).

8- Posologie

Les H.E peuvent être prescrites soit dans un excipient huileux lorsque un apport supplémentaire lié à son action propre est désiré soit, lorsque nous groupons la triple association classique, en solution alcoolique.

Même si elles paraissent moins commodes d'usage, nous les préférons le plus souvent possible en gouttes qu'en gélules, où elles sont absorbées sur une poudre qui ne permet pas la même fiabilité. La souplesse de prescription est plus grande et permet une modulation très étendue en fonction du malade (Durrafourd C., Lapraz J.C., 2002).

9- Conclusion

Les H.E ont une importance en phytothérapie par voie externe, comme antiseptiques, anti-inflammatoires, antalgiques, spasmolytiques topiques.

C'est grâce aux qualités antiseptiques inhérentes aux H.E que les problèmes de conservation sont moins importants. Le vieillissement lent permet une durée de conservation de deux à cinq ans. Il faut cependant des fioles inertes chimiquement et de bonne fermeture (Goetz P., Busser C., 2007).

BIBLIOGRAPHIE

- Ashton J., Cassel D., *Review for Therapeutic Massage and Bodywork Certification*, Second edition, Lippincott Williams & Wilkins, **2006**, p.207.
- Atta-Ur R., *Studies in natural products chemistry*, Vol. 21, Ed. Elsevier, **2003**, p.573-575.
- Baba Aissa F., *Encyclopédie des plantes utiles*, Librairie moderne-Rouïba, **2000**.
- Balz R., *The healing power of essential oils*, Lotus Press, **1996**, p.56.
- Bowles E.J., *The Chemistry of Aromatherapeutic Oils*, 3^{ème} édition, Allen & Unwin, **2003**, p.164-169.
- Bruneton J., *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 3^{ème} édition, Tec & Doc, **1999**, p.484.
- Cecile Pibiri M., *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*, Thèse de doctorat, École polytechnique fédérale de Lausanne, **2006**.
- Charpentier B., Hamon-Lorleac'h F., Harlay A., Ridoux L., Huard A., Chansellé S., *Guide du préparateur en pharmacie*, Ed. Elsevier Masson, **2008**, p.1098.
- Dudareva N., Pichersky E., *Biology of floral scent*, Ed. CRC Press, **2006**, p.5-6.
- Durrafourd C., Lapraz J.C., *Traité de phytothérapie clinique*, 3^{ème} éditions, Elsevier Masson, **2002**, p.7-8.
- Flanagan R.J., Taylor A.A., Watson I.D., Whelpton R., *Fundamentals of analytical toxicology*, Ed. John Wiley and Sons, **2008**, p.73.
- Goetz P., Busser C., *La phytocosmétologie thérapeutique*, Ed. Springer, **2007**, p.58.
- Gould F., *Aromatherapy for Holistic Therapists*, Nelson Thornes, **2003**, p.70-72.
- Grushka B., Brown P.R., Grushka E., Lunte S., *Advances in Chromatography*, Ed. CRC Press, **2004**, p. 264.
- Kayne S.B., *Complementary therapies for pharmacists*, Pharmaceutical Press, **2002**, p.219.
- Kolbesen B.O., Claeys C., Stallhofer P., Tardif F., Schroder D.K., Shaffner T.J., Tajima M., Rai-Choudhury P., *Analytical and diagnostic techniques for semiconductor materials, devices, and processes*, The Electrochemical Society, **2003**, p.160.
- Linskens H.F., Jackson J.F., Allen M.S., *Plants volatile analysis*, Vol. 19, Ed. Springer, **1997**, p.142-143.
- Mendham J., Vogel A.I., Denney R.C., Toullec J., Barnes J.D., Mottet M., Thomas M.J.K., *Analyse chimique quantitative de Vogel*, Ed. De Boeck Université, **2005**, p.216.

- Mitra S., *Sample preparation techniques in analytical chemistry*, Ed. Wiley-IEEE, **2003**, p.200-201.
- Pawliszyn J., *Solid phase microextraction: theory and practice*, Ed. Wiley-VCH, **1997**, p.16-17.
- Revuz J., *Cosmétologie et dermatologie esthétique*, Ed. Elsevier Masson, **2009**, p.3.
- Roquebert M.F., *Les contaminants biologiques des biens culturels*, Ed. Elsevier Masson, **2002**, p.333.
- Rouessac F., Rouessac A., *Analyse chimique*, 6^e édition, Dunod, Paris, **2004**, p.419-420.
- Scimeca D., Tetau M., *Votre santé par les huiles essentielles*, Alpen Editions, **2002**, p.13.
- Skaria B.P., Joy P.P., Mathiew S., Mathiew G., Joseph A., Ragina J., *Aromatic plants*, New India Publishing, **2007**, p.47.
- Wilson R., *Aromatherapy: Essential Oils for Vibrant Health and Beauty*, 2^{ème} édition, Avery, **2002**, p.22-24.

DEUXIEME PARTIE : ESSAIS EXPERIMENTAUX

CHAPITRE I : EXTRACTION ET CARACTERISATION DE LA PARTIE VOLATILE DE *Zizyphus lotus* L.

I- Extraction de la partie volatile de *Zizyphus lotus* L.

1- Introduction

A l'heure actuelle et d'après l'étude bibliographique approfondie menée sur *Zizyphus lotus* L. nous concluons qu'aucune référence ne mentionne la composition chimique de son H.E. Pour cela, nous nous sommes proposés de la caractériser chimiquement en employant les méthodes chromatographiques (CPG et CPG/SM).

2- Cueillette et conservation de la plante

Les biomasses récoltées, dans un premier temps, à Nedroma-Wilaya de Tlemcen le 13 Octobre 2007 et confirmées par le Pr Benabadi Nouri de l'Université de Tlemcen, sont constituées des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus* L. Ces derniers sont disposés sur des feuilles de papier journal dans un endroit sombre, sec et aéré afin de les sécher jusqu'à leur usage.

D'autre part, une deuxième cueillette des feuilles fraîches a eu lieu le 17 Avril 2009 à Hennaya-Wilaya de Tlemcen. Débarrassées de débris, ces feuilles ont été, par ailleurs, reconnues par le Pr Benabadi et conservées au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

3- Préparation des extraits volatils

L'extraction des H.E a été effectuée par hydrodistillation suivie d'une extraction liquide-liquide du distillat par un solvant : l'éther diéthylique (fruits et feuilles secs), et le pentane (feuilles fraîches).

3-1- Hydrodistillation

L'Hydrodistillation est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est de la vapeur d'eau. Elle peut être utilisée pour extraire des espèces insolubles dans l'eau.

3-1-1- Principe : Le principe de l'hydrodistillation est le suivant : (Bagard S., Simon N, 2008).

- La substance contenant l'espèce volatile à extraire est mélangée à de l'eau et l'ensemble est porté à ébullition.
- La phase gazeuse, contenant l'espèce volatile et la vapeur d'eau, arrive en haut de la colonne, passe dans le réfrigérant et se condense.
- Le résultat de l'hydrodistillation est le distillat. Ce dernier comporte alors deux phases liquides, que nous pouvons séparer par décantation.

3-1-2- Technique : Les extractions effectuées ont porté sur :

- Les fruits secs : 100 g.
- Les feuilles sèches : 50 g.
- Les feuilles fraîches : sept essais d'extraction de 50 g chacune ont été réalisés.

La procédure a consisté à :

- Placer, dans un ballon surmonté d'une colonne raccordée à un réfrigérant, la partie étudiée de la plante et de l'eau distillée.
- Porter le tout à reflux.
- Saturer le distillat, ainsi obtenu, avec du sel.



Fig.16 : Montage de l'hydrodistillation.

3-2- Extraction par solvant

L'extraction par solvant, parfois, appelée extraction liquide-liquide est une technique impliquant le transfert sélectif d'un soluté d'une phase liquide à une autre non miscible, habituellement, par agitation dans une ampoule à décanter (Fifield F.W., Kealey D, 2000, Mendham J. et Coll., 2005).

L'identification de chaque phase se fait par leur différence de densité. Dans la plupart des cas, l'une des phases est l'eau, l'eau pure ou une solution acide, basique ou tamponnée ; l'autre est un solvant organique. Ce dernier est moins dense que l'eau, mais le cas contraire est possible (Mesplède J., Saluzzo C., 2004, Rydberg J. et Coll., 2004).

3-2-1- Principe : Un soluté A à extraire, initialement dissout dans l'une des deux phases, est partagé entre ces deux phases. Lorsque cette distribution est en équilibre, le soluté est, à la concentration $[A]_{aq}$, dans la phase aqueuse et à la concentration $[A]_{org}$ dans la phase organique (Rydberg J. et Coll., 2004).

La sélectivité de la séparation et son efficacité dépendent du choix des deux phases et du coefficient de partage du composé à extraire entre ces deux phases (Mendham J. et Coll., 2005, Mesplède J., Saluzzo C, 2004).

3-2-2- Technique : L'opération s'effectue dans une ampoule à décanter. Pour ce faire, nous avons :

- Ajouté le solvant dans l'ampoule contenant le distillat.
- Agité et laissé décanter.
- Récupéré les phases organiques.

Après avoir évaporé le solvant, les H.E sont conservées dans des flacons bien fermés au réfrigérateur à 4°C.

II- Caractérisation de l'extrait éthéré de l'H.E de *Zizyphus lotus* L.

1- Analyse chimique des extraits volatils

L'analyse des extraits éthérés des H.E a été réalisée par deux techniques chromatographiques : CPG et CPG/SM.

1-1- Analyse par CPG

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique très répandue, dont les premières applications sont maintenant vieilles de plus de 60 ans. Son développement qui n'a cessé depuis, est dû à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, à la rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt (Rouessac F., Rouessac A, 2007).

La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés analogues, soit par partage, soit par adsorption, pour des échantillons très réduits. Elle présente toutefois des limites : elle nécessite que l'échantillon soit susceptible d'être, rapidement, volatilisé sans décomposition. (Cserhádi T., Forgács E, 1999). Elle est donc applicable à des matériaux volatils. Cette catégorie incluant, toutefois, des substances ayant une pression de vapeur non négligeable à des températures pouvant atteindre 400°C. L'instabilité à des hautes températures rend, habituellement, un composé peu convenable pour l'analyse en CPG.

La condition de volatilité de l'échantillon signifie que des substances non polaires sont, généralement, plus faciles à séparer que des substances polaires et que les composés ioniques ne peuvent pas traverser la colonne de CPG. La technique ne concerne donc qu'environ 20% des produits chimiques connus (Mendham J. et Coll., 2005).

1-1-1-Principe : l'échantillon est introduit, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne (Rouessac F., Rouessac A, 2007).

La séparation est basée sur la différence des interactions des composés de l'échantillon avec les deux phases : une phase mobile et une phase stationnaire (Haven M.C., 1995). En effet, les différences des pressions de vapeur des molécules de chaque composé sont à l'origine de leur partition entre la phase mobile et la phase stationnaire.

Les composés, qui ont traversé la colonne grâce au gaz vecteur, passent dans un détecteur les un après les autres, après un laps de temps en rapport avec leurs propriétés physiques et chimiques (Stuart B., Prichard F.E., 2003, Fox M.A., Whitesell J.K., 2004).

La phase stationnaire doit être un adsorbant actif comme l'alumine, le gel de silice ou le carbone graphité (la chromatographie gaz-solide), ou un liquide fixé d'un support solide inerte tel que la brique réfractaire pilée et la terre de diatomées (la chromatographie gaz-liquide) (Organisation mondiale de la santé, 2006).

1-1-2- Technique : L'analyse quantitative a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de marque Perkin-Elmer (autosystème XL) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et muni de deux colonnes capillaires en silice fondue de type RTX-1 (polydiméthylsiloxane) et RTX-wax (polyéthylène glycol) qui possèdent les caractéristiques suivantes (longueur : 60 m, diamètre interne : 0.22 mm, épaisseur de film : 0.25 µm).

La température de la colonne est programmée de 60 à 230°C à raison d'une montée de 2°C/min, puis elle est maintenue à 230°C pendant 35 min.

La température de l'injecteur et celle de détecteur (FID) est fixée à 280°C. Le mode d'injection est Split (rapport de fuite de 1/50). Le débit de gaz vecteur (hélium) est fixé à 1 ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est 0.2 µl.

1-2- Analyse par CPG/SM

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse est, justement, le meilleur exemple pour démontrer le pouvoir de la combinaison d'une méthode de séparation fortement efficace et une méthode de détection sensible et sélective (Heftmann E., 2004).

La CPG/SM est l'une des techniques de l'analyse des mélanges à l'état de traces (Giddings J.C., Keller R.A., 1974). C'est une méthode utilisée pour l'identification qualitative des composés inconnus et aussi la détermination quantitative précise de ces composés. Presque 10% de tous les composés organiques sont appropriés pour l'analyse de CPG/SM. Ainsi, Seuls les composés volatils et thermiquement stables qui peuvent être analysés par cette technique (Grob R.L., Barry E.F., 2004).

1-2-1- Principe: L'effluent gazeux du chromatographe est dirigé, par la ligne de transfert, vers la source d'ion du spectromètre. Les analytes vaporisés sont ionisés, produisant des ions de fragmentation, qui sont, ensuite, détectés (Grob R.L., Barry E.F., 2004).

1-2-2: Technique : L'identification des constituants a été réalisée par couplage d'un chromatographe en phase gazeuse de marque Perkin Elmer (autosystème XL) à un spectromètre de masse à quadripôle de type Perkin Elmer Turbo. La température de la source d'ions est fixée à

150°C. La fragmentation est effectuée en impact électronique sous un champ de 70 eV, Scanning 35-350 Da. La colonne utilisée est RTX-wax.

Les conditions opératoires sont :

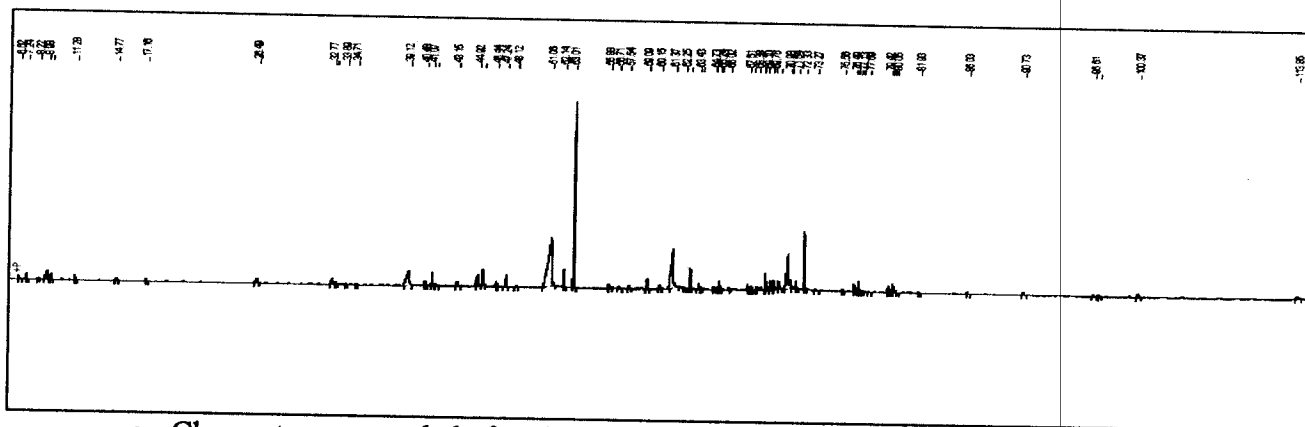
- La température de l'injecteur et du détecteur : 280°C.
- La programmation de température : de 60°C à 230°C à raison de 2°C/min puis maintenue à 230°C pendant 35 min.
- Le gaz vecteur : Hélium à 1 ml/min, le mode d'injection est Split (rapport de fuite de 1/80).

2- Identification des constituants des H.E

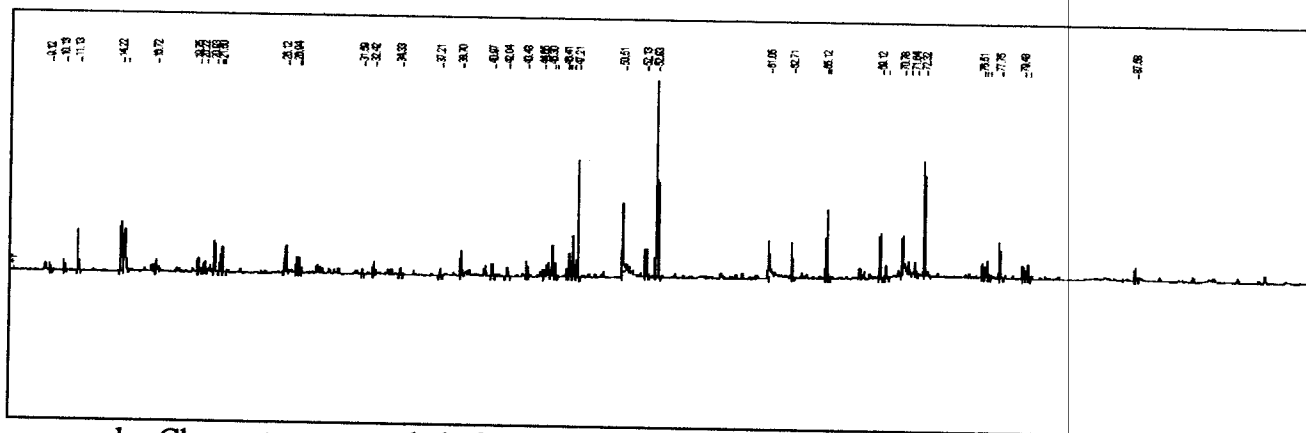
Les différents constituants des H.E, extraites des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus* L. puis récupérées avec de l'éther diéthylique, ont été identifiés par comparaison des indices de rétention (IR) de leurs constituants avec ceux des composés standards de la banque de données (Nist).

L'identification des molécules a été confirmée par comparaison aussi de leurs spectres de masse avec ceux connus dans la littérature.

Le chromatogramme de la fraction étherée des H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L. présente environ 70 pics. D'autre part, celui des feuilles ne montre qu'une cinquantaine de pics.



a- Chromatogramme de la fraction étherée de l'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L.



b- Chromatogramme de la fraction étherée de l'H.E des feuilles de *Zizyphus lotus* L.

Fig.17 : CPG de la fraction étherée des H.E des fruits et des feuilles de *Zizyphus lotus* L.

L'étude minutieuse des CPG fournit les résultats regroupés dans les tableaux 4 et 5 :

Tableau 4 : Composition chimique de la fraction étherée de l'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L.

pic	Tr (min)	% Aire	%	IR	Formule	Composés
1	8.98	65821.13	1.33	821.28	C ₅ H ₁₀ O ₂	Acide 3-méthyl butanoïque
2	9.33	33225.38	0.67	831.26	C ₅ H ₁₀ O ₂	Acide 2-méthyl butanoïque
3	14.77	19314.50	0.39	960.08	C ₆ H ₁₂ O ₂	Acide hexanoïque
4	26.49	29383.72	0.59	1158.35	C ₈ H ₁₆ O ₂	Acide octanoïque
5	32.77	39194.74	0.79	1256.42	C ₉ H ₁₈ O ₂	Acide nonanoïque
6	39.12	202515.30	4.08	1357.34	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	Acide décanoïque
7	40.48	17471.91	0.35	1379.33	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Décanoate d'éthyle
8	41.07	52566.25	1.06	1388.85	C ₁₂ H ₂₄ O	Dodécanal
9	47.24	54658.94	1.10	1492.39	C ₁₅ H ₂₄ O	2,6-Ditertiobutyl crésol
10	51.06	974480.90	19.64	1559.64	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Acide dodécanoïque
11	52.14	69898.19	1.41	1578.85	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Dodécanoate d'éthyle
12	53.01	931324.61	18.77	1594.29	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	<i>n</i> -Dodécyl acétate
13	61.37	510115.62	10.28	1752.58	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Acide tétradécanoïque
14	62.71	77308.73	1.56	1778.73	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Tétradécanoate d'éthyle
15	68.38	17969.26	0.36	1894.60	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Pentadécanoate d'éthyle
16	69.10	64423.70	1.30	1909.98	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Hexadécanoate de méthyle
17	70.98	333100.20	6.71	1950.48	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Acide hexadécanoïque
18	72.33	237300.33	4.78	1979.70	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Hexadécanoate d'éthyle
Composés identifiés			75.17%			

Tableau 5 : Composition chimique de l'extrait étheré de l'H.E des feuilles de *Zizyphus lotus* L.

Pic	Tr (min)	% Aire	%	IR	Formule	Composés
1	9.12	3257.29	0.32	825.31	C ₄ H ₈ O ₂	Acide butanoïque
2	14.56	65458.00	6.44	955.90	C ₆ H ₁₂ O ₂	Acide hexanoïque
3	20.22	4768.34	0.47	1057.66	C ₈ H ₁₂ O	6-Méthyl-3,5-héptadièn-2-one
4	20.93	20546.04	2.02	1069.62	C ₉ H ₁₈ O ₂	Butanoate de 3-méthylbutyle
5	26.12	28501.32	2.80	1152.62	C ₈ H ₁₆ O ₂	Acide octanoïque
6	26.94	13572.55	1.33	1165.41	C ₉ H ₁₆ O	Trans,cis-2,6-nonadièn-1-ol
7	38.70	19003.62	1.87	1350.63	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	Acide décanoïque
8	47.21	79459.82	7.82	1491.84	C ₁₅ H ₂₄ O	2,6-Ditertiobutyl crésol
9	50.51	75862.57	7.46	1549.82	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Acide dodécanoïque
10	52.13	15496.87	1.52	1578.54	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Dodécanoate d'éthyle
11	52.93	116701.13	11.48	1592.78	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	<i>n</i> -Dodécyl acétate
12	61.05	30871.52	3.04	1746.21	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Acide tétradécanoïque
13	62.71	20520.50	2.02	1778.85	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Tétradécanoate d'éthyle
14	69.12	28256.66	2.78	1910.33	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Hexadécanoate de méthyle
15	70.78	36147.69	3.56	1946.21	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Acide hexadécanoïque
16	72.32	71208.26	7.00	1979.53	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Hexadécanoate d'éthyle
Composés identifiés			61.93%			

3- Discussion des résultats

Les extractions fournissent des H.E de couleur transparente avec une forte odeur de la plante. Le rendement en H.E est faible (0.01%). C'est d'ailleurs la raison pour laquelle nous avons réalisé l'extraction de la phase aqueuse avec de l'éther diéthylique. Un extrait étheré de l'H.E est obtenu. Cette faible teneur peut être attribuée à la période et la région de la récolte, les conditions pédoclimatiques et la technique d'extraction utilisée.

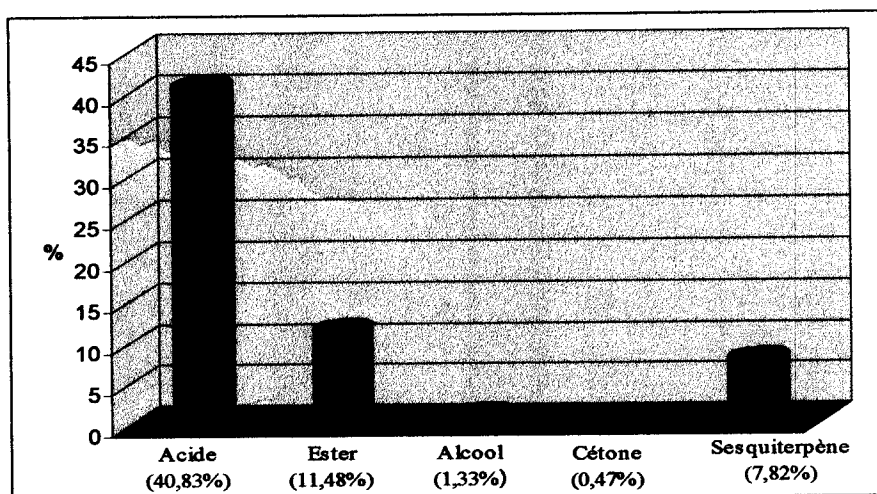
Les analyses chromatographiques des extraits étherés ont permis d'identifier seize composés qui représentent un pourcentage d'identification de 61.93% pour les feuilles de *Zizyphus lotus* L. contre dix-huit composés représentant 75.17% de l'extrait des fruits de la même plante étudiée.

La lecture des tableaux 4 et 5 suggère les remarques suivantes :

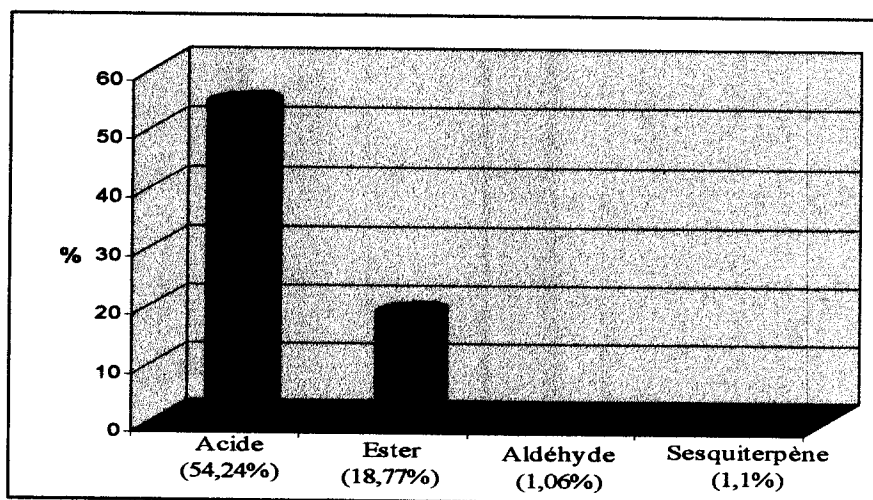
- L'extrait étheré des H.E des feuilles de *Zizyphus lotus* L. est composé, principalement, de *n*-dodécyl acétate (11.48%) accompagné d'autres constituants : acide hexanoïque (6.44%), 2,6-ditertiobutyl crésol (7.82%), acide dodécanoïque (7.46%), hexadécanoate d'éthyle (7.00%).
- L'extrait étheré des H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L. est caractérisé par sa richesse en acide dodécanoïque (19.64%), *n*-dodécyl acétate (18.77%), acide tétradécanoïque (10.28%). D'autres composés sont, aussi, identifiés comme : acide décanoïque (4.08%), acide hexadécanoïque (6.71%), hexadécanoate d'éthyle (4.78%).
- L'extrait étheré des H.E des feuilles diffère, légèrement, de celui des fruits par sa plus faible teneur en acide tétradécanoïque et en acide dodécanoïque et un pourcentage plus élevé en 2,6-ditertiobutyl crésol.

Plusieurs facteurs influent sur la composition chimique des H.E tels que : l'origine, le stade phénologique, les facteurs écologiques et environnementaux et les facteurs génétiques.

Les histogrammes 1 et 2 illustrent, respectivement, les différentes classes de composés caractérisés dans les extraits d'H.E des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus* L.



Histogramme 1 : Composition chimique de l'extrait d'H.E des feuilles de *Zizyphus lotus* L.



Histogramme 2 : Composition chimique de l'extrait d'H.E des fruits de *Zizyphus lotus* L.

Chimiquement très proches, ces deux extraits étherés des H.E renferment, principalement, les acides dans les feuilles et les fruits respectivement avec 40.83% et 54.24%. Viennent, ensuite, les esters : 11.48% pour les feuilles et 18.77% pour les fruits.

Pour les extraits étherés des H.E des feuilles, le sesquiterpène oxygéné prédominant est 2,6-ditertiobutyl crésol (7.82%). Ce dernier est relativement moins présent dans les fruits (1.1%).

La présence d'un alcool trans, cis-2,6-nonadièn-1-ol (1.33%) et d'une cétone 6-méthyl-3,5-héptadièn-2-one (0.47%), et l'absence d'un aldéhyde dodécanal, présent dans l'extrait d' H.E des fruits (1.06%), caractérisent la fraction volatile des feuilles de *Zizyphus lotus* L.

BIBLIOGRAPHIE

- Bagard S., Simon N., Physique-chimie, Tout-en-un, Bréal, 2008, p.128.
- Cserhádi T., Forgács E., Chromatography in food science and technology, CRC Press, 1999, p. 1.
- Fifield F.W., Kealey D., Principles and practice of analytical chemistry, Ed. Wiley-Blackwell, 2000, p.55.
- Fox M.A., Whitesell J.K., Organic chemistry, Jones & Bartlett Publishers, 2004, p.163.
- Giddings J.C., Keller R.A., Advances in chromatography, Ed. CRC Press, 1974, p.128.
- Grob R.L., Barry E.F., Modern practice of gas chromatography, Ed. Wiley-IEEE, 2004, p.341-343.
- Haven M.C., Gregory A., Tetrault, Schenken J.R., Laboratory Instrumentation, Ed. John Wiley and Sons, 1995, p.267.
- Heftmann E., Chromatography: Fundamentals and techniques, Ed. Elsevier, 2004, p.413.
- Mendham J., Vogel A.I., Denney R.C., Toullec J., Barnes J.D., Mottet M., Thomas M.J.K., Analyse chimique quantitative de Vogel, Ed. De Boeck Université, 2005, p.231-314.
- Mesplède J., Saluzzo C., 100 manipulations de chimie organique et inorganique, Ed. Bréal, 2004, p.27.
- Organisation mondiale de la santé. The international pharmacopoeia, World Health Organization, 2006, p.1193.
- Rouessac F., Rouessac A., Brooks S., Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques, Ed. John Wiley and Sons, 2007, p.31.
- Rydberg J., Cox M., Musikas C., Solvent extraction principles and practice, Ed. CRC Press, 2004, p.1.
- Stuart B., Prichard F.E., Gas chromatography, Royal Society of Chemistry, 2003, p.1.

CHAPITRE II : ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS D'H.E DE *Zizyphus lotus* L.

1- Introduction

L'activité antibactérienne des H.E peut être évaluée suivant trois méthodes :

- deux correspondent à l'activité des produits par contact direct, c'est-à-dire par dilution du produit en milieu liquide ou en milieu gélosé,
- et la troisième par micro-atmosphère. (Roquebert M.F., 2002).

Le présent chapitre concerne l'étude du pouvoir antibactérien des extraits au pentane des H.E des feuilles de *zizyphus lotus* L. par la méthode de la diffusion sur gélose ou méthode des disques.

2- Culture des microorganismes

La culture constitue un grand moyen d'identification des microorganismes. Nous y avons recours surtout pour l'identification des bactéries et, dans une moindre mesure, pour les mycètes. La culture des virus n'est pas effectuée de routine.

La culture des microorganismes, au laboratoire, doit respecter une double contrainte : les besoins nutritifs des microorganismes et les conditions environnementales dans lesquelles ils croissent habituellement. (Regnault J.P., 2002).

En laboratoire, les cultures sont effectuées en milieux liquides, dans des flacons ou dans des grands vaisseaux de culture appelés " fermenteurs ", ou solides, comme les boîtes de Pétri, rondes, normalement en plastique et stériles. (Nicklin J. et Coll, 1999).

Sur les milieux de culture solides, les microorganismes se développent en formant des colonies (des amas de couleurs, de dimensions et de formes plus ou moins caractérisées). (Regnault J.P., 2002).

Les milieux liquides sont représentés par le bouillon nutritif ordinaire qui est composé de trois composants principaux : les peptones, les extraits de viande et les extraits de levure. Dans ces milieux, les microorganismes se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. (Nauciel C., Vildé J.L., 2005, Denis F. et Coll, 2007).

La température, la quantité d'oxygène, le pH et la concentration osmotique du milieu sont des facteurs de l'environnement très importants pour la culture des microorganismes. (Prescott L.M et Coll, 2003).

3- Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

3-1- Antibiogramme

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension du microorganisme à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les microorganismes

croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. Nous observons ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus le microorganisme est résistant. (Cecile Pibiri M., 2006).

3-1- Micro atmosphère

Dérivé de la méthode précédente, le protocole des micro-atmosphères est techniquement proche de celui des antibiogrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné.

Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Cette méthode est rarement citée car les auteurs, qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase gazeuse, sont encore peu nombreux. (Cecile Pibiri M., 2006).

4- Tests antibactériens

Trois bactéries ont été choisies pour leur pathogénicité : *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif), *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (Gram positif). Ces souches sont fournies par l'institut Pasteur de Paris (IPP).

L'antibiotique utilisé est la Gentamicine : c'est un aminoside à large spectre produit par *Micromonospora purpurea*. Elle possède une action bactéricide contre de nombreuses bactéries aérobies à Gram négatif, mais peu active contre la plupart des germes à Gram positif à l'exception des staphylocoques. (Organisation mondiale de la santé, 2003).

La technique utilisée consiste à :

- Préparer une culture de 24 heures à 37°C, de bactéries à tester sur gélose nutritive. Après 24 heures d'incubation, prendre 4 à 5 colonies et les mettre dans 5 ml de bouillon nutritif.
- Mesurer la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde $\lambda = 625$ nm. La valeur affichée doit être comprise dans l'intervalle [0.08 – 0.1], ce qui correspondra à une concentration en bactéries de 10^8 U.F.C / ml.
- Effectuer une dilution de 1/100 dans l'eau physiologique à 0.9%. Ceci donnera une concentration en bactéries finale de 10^6 U.F.C / ml.
- Ensemencer de la gélose Mueller-Hinton (MH) par inondation. Aspirer l'excès du liquide. Sécher la surface de la gélose 15 à 20 minutes à $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Préparer des disques : les disques sont préparés à partir du papier filtre (6 mm de diamètre). Ces derniers sont imprégnés de l'extrait à raison de 10 μl , ensuite séchés.
- A l'aide d'un distributeur de disques, placer sur la surface de la gélose Mueller-Hinton (MH) préalablement ensemencée, les disques d'antibiotique et d'extrait. Les boîtes ont été laissées durant 20 minutes à la température ambiante. Elles ont été, ensuite, incubées à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 18 à 24 heures.

Les résultats des tests sont représentés dans le tableau 6 ci-dessous :

Tableau 6 : Les valeurs des diamètres (mm) d'inhibition de différentes souches pour des disques imprégnés d'extraits d'H.E et d'antibiotique.

	Extrait	Gentamicine
<i>Escherichia coli</i>	6.0	38.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.0	Non déterminé
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.0	37.0

Inactif : diamètre $d \leq 6$ mm ; Activité moyenne : $6 < d \leq 12$ mm ; Activité modérée : $12 < d \leq 20$ mm ; Bonne activité : $d > 20$ mm.

Le tableau 6 montre une activité antibactérienne très faible de l'extrait du pentane de l'H.E des feuilles de *Zizyphus lotus* L. vis-à-vis des souches bactériennes utilisées.

La faible activité antibactérienne de cet extrait peut s'expliquer par son profil chimique pauvre en composés connus pour leur pouvoir antimicrobien comme certains alcools monoterpéniques et les phénols. (Franchomme P., 1981, Koba K., 2004).

BIBLIOGRAPHIE

- Cecile Pibiri M., Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de doctorat, École polytechnique fédérale de Lausanne, 2006.
- Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R., Bactériologie médicale: Techniques usuelles, Ed. Elsevier Masson, 2007, p.14.
- Franchomme P., L'aromatologie à visée anti-infectieuse, 1981, 1-2 : 25-47.
- Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J., Chaumont J.P., Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie., *Ann. Méd. Vét.*, 2004, 148 : 202-206.
- Nauciel C., Vildé J.L., Bactériologie médicale, Ed. Elsevier Masson, 2005, p.10.
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R., L'essentiel en Microbiologie, Berti Editions, 1999, p.99.
- Organisation mondiale de la santé. Médicaments utilisés dans les infections bactériennes, World Health Organization, 2003, p.151.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Bacq-Calberg C.M., Dusart J., Microbiologie, Ed. De Boeck Université, 2003, p.96.
- Regnault J.P., Eléments de microbiologie et d'immunologie, Decarie, 2002, p.540.
- Roquebert M.F., Les contaminants biologiques des biens culturels, Ed. Elsevier Masson, 2002, p.347.

CONCLUSION GENERALE

L'analyse chromatographique des fractions étherées des H.E des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus* L. nous a permis d'identifier un mélange complexe. En effet, les composants identifiés appartiennent à plusieurs familles de composés chimiques: acides, esters, aldéhydes, alcools, cétones et les sesquiterpènes oxygénés.

Dix-huit composés ont été identifiés représentant 75.17% de la composition chimique totale des extraits étherés des H.E des fruits. L'acide dodécanoïque (19.64%), le *n*-dodécyl acétate (18.77%), l'acide tétradécanoïque (10.28%) sont majoritaires. Nous notons aussi la présence, à un degré moindre, de l'acide hexadécanoïque (6.71%), de l'hexadécanoate d'éthyle (4.78%) et de l'acide décanoïque (4.08%). Les autres composés sont présents en faibles quantités.

Cette étude nous a permis, également, d'établir la composition chimique des extraits étherés des H.E des feuilles. Ces dernières contiennent principalement: le *n*-dodécyl acétate (11.48%), le 2,6-ditertiobutyl crésol (7.82%), l'acide dodécanoïque (7.46%), l'hexadécanoate d'éthyle (7.00%) et l'acide hexanoïque (6.44%).

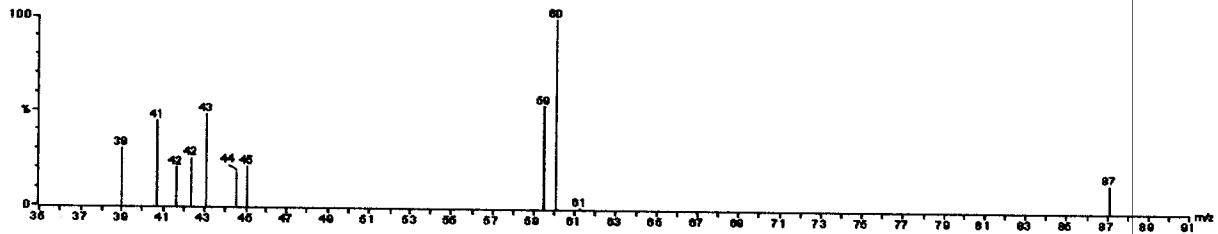
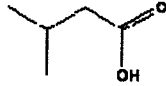
Les tests antimicrobiens effectués sur les souches suivantes: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, n'ont pas donné de résultats probants. D'autres extraits seront testés dans un futur proche.

Enfin, les H.E de *Zizyphus lotus* L. n'ont pas fait l'objet de beaucoup de recherches. Il est temps de se focaliser sur l'étude de la variabilité de la composition chimique en tenant compte du moment et du lieu de la récolte. Cette étude sera poursuivie d'une évaluation des activités antimicrobienne et anti-oxydante des H.E.

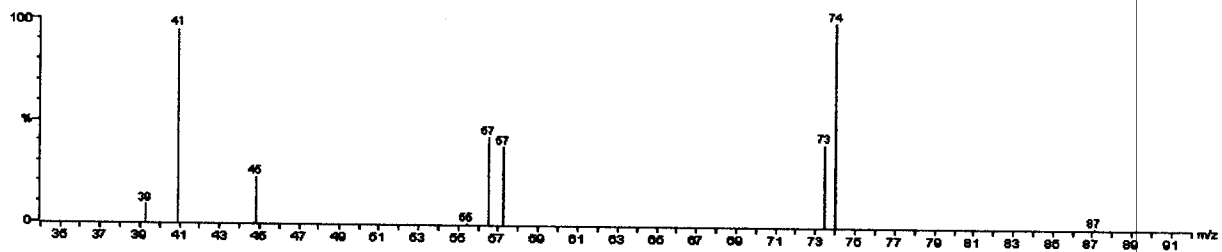
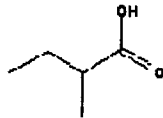
ANNEXE

Spectres de masse des composés identifiés des extraits étherés d'HE des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus*

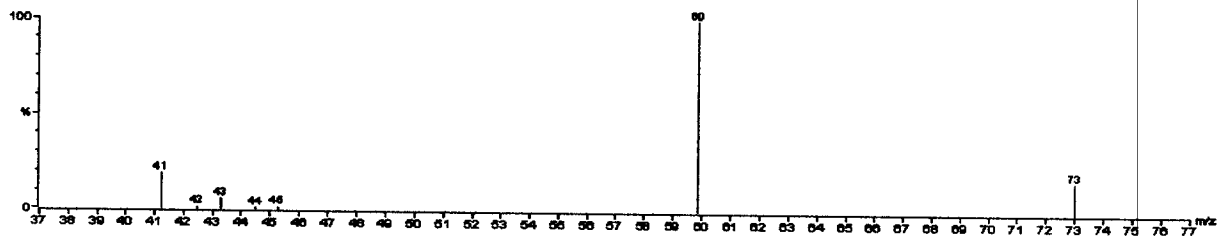
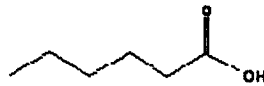
- Acide 3-méthyl butanoïque



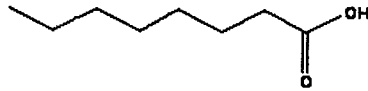
- Acide 2-méthyl butanoïque



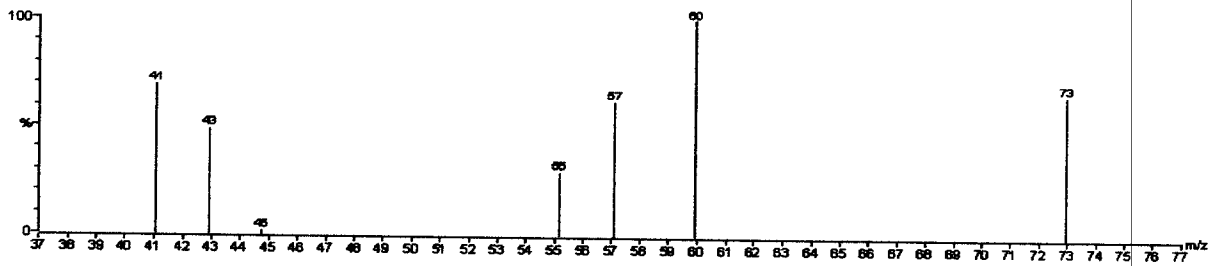
- Acide hexanoïque



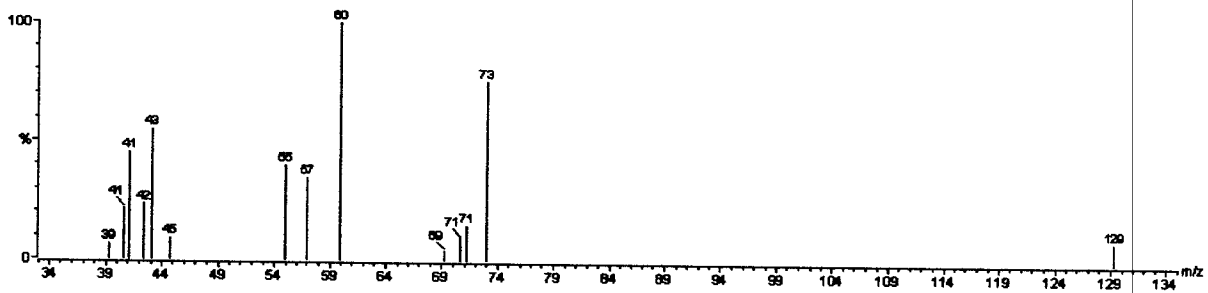
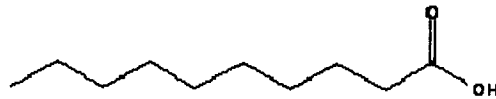
- Acide octanoïque



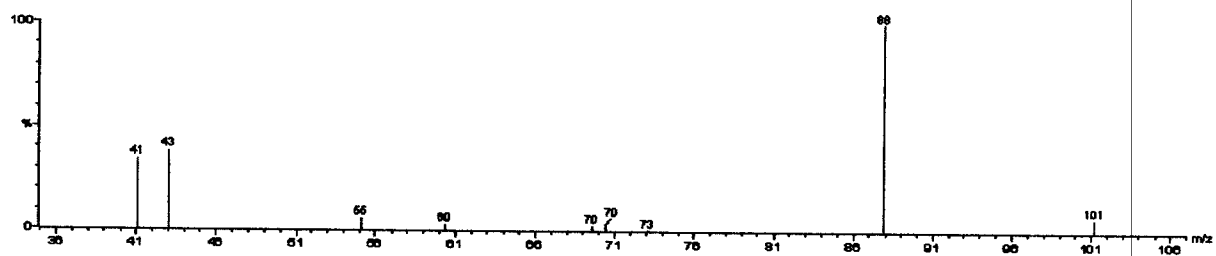
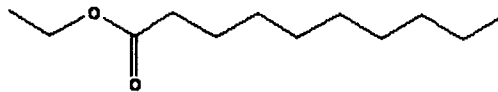
- Acide nonanoïque



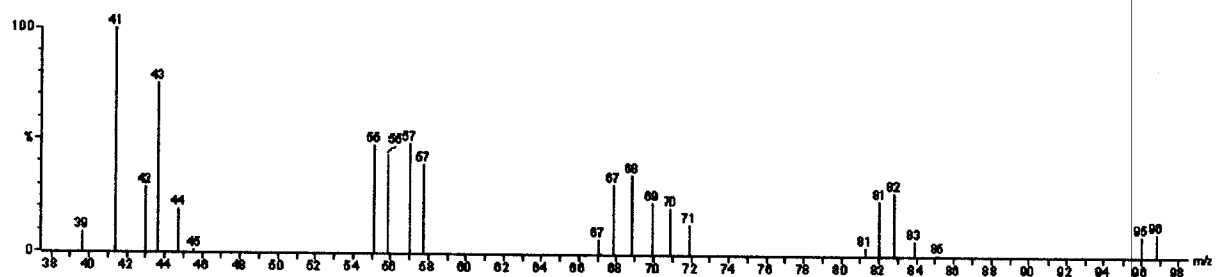
- Acide décanoïque



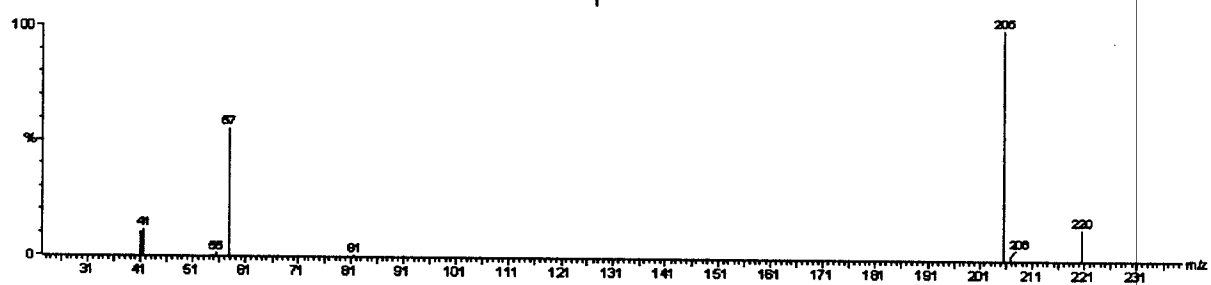
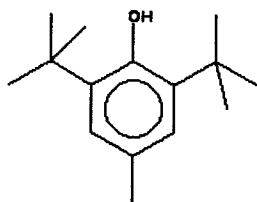
- Décanoate d'éthyle



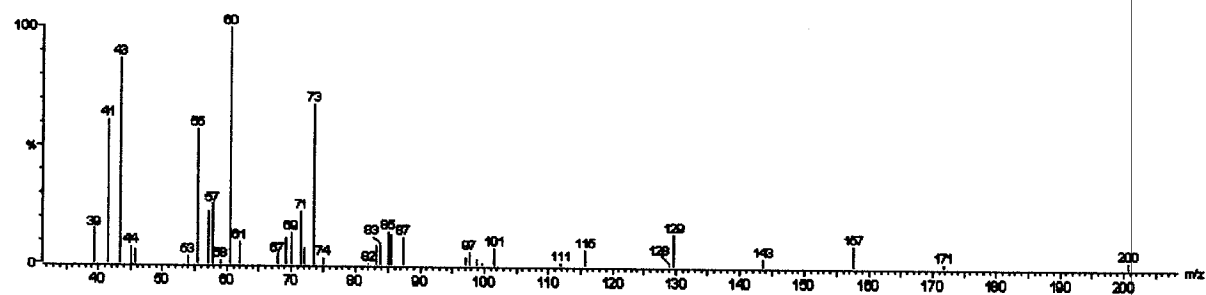
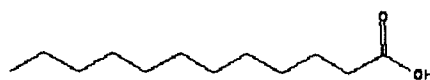
- Dodécanal



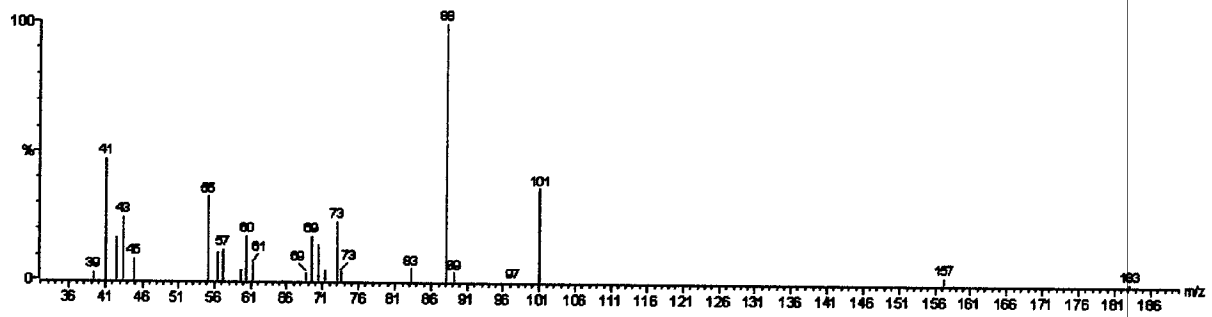
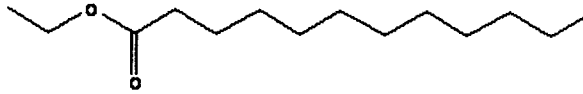
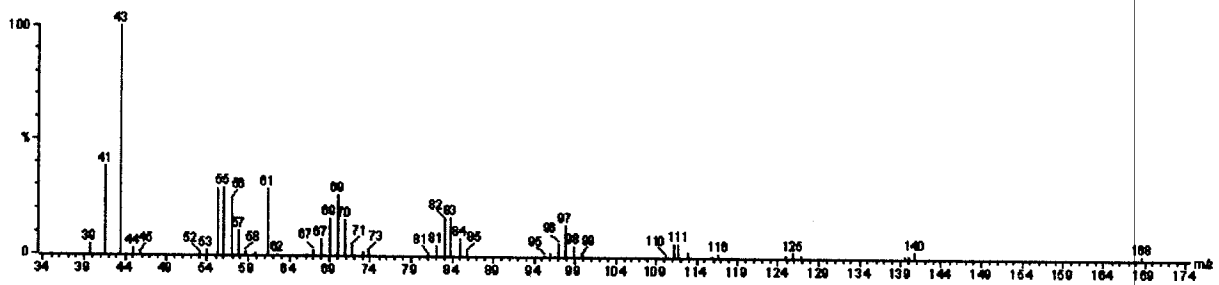
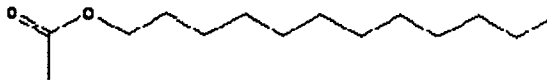
- 2,6-ditertiobutyl crésol



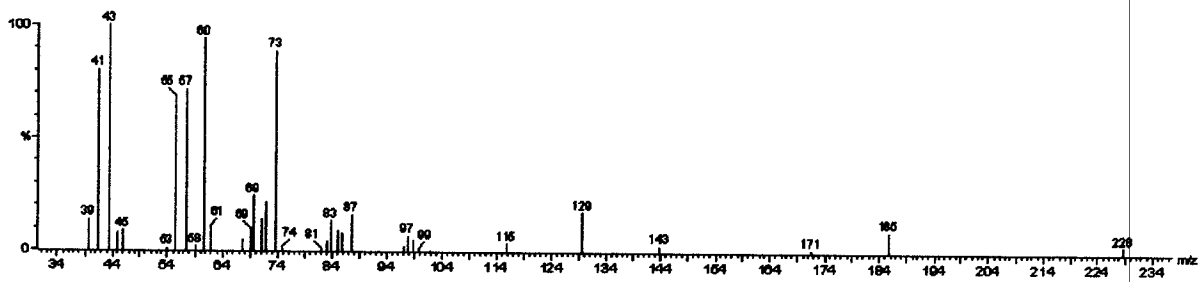
- Acide dodécanoïque



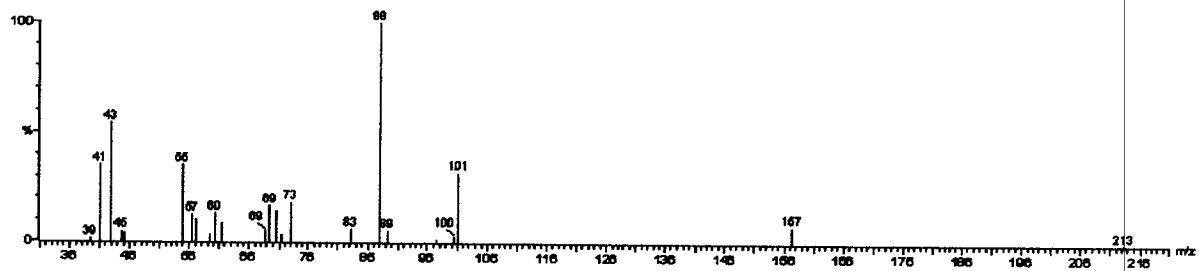
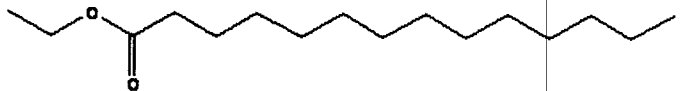
- Dodécanoate d'éthyle

- *n*-Dodécyl acétate

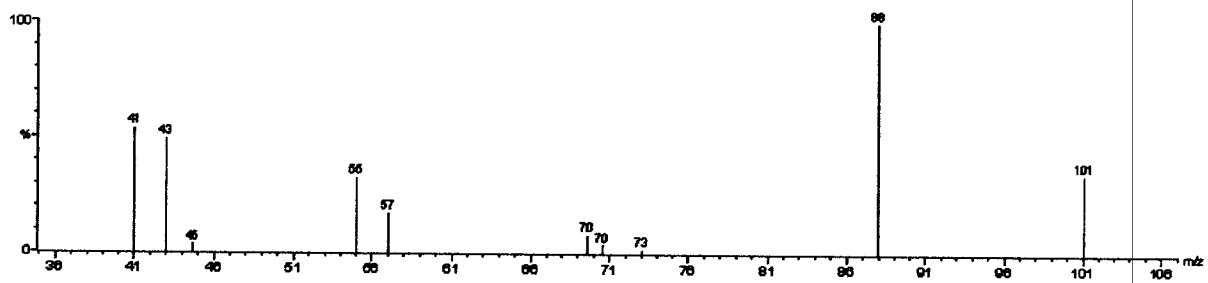
- Acide tétradécanoïque



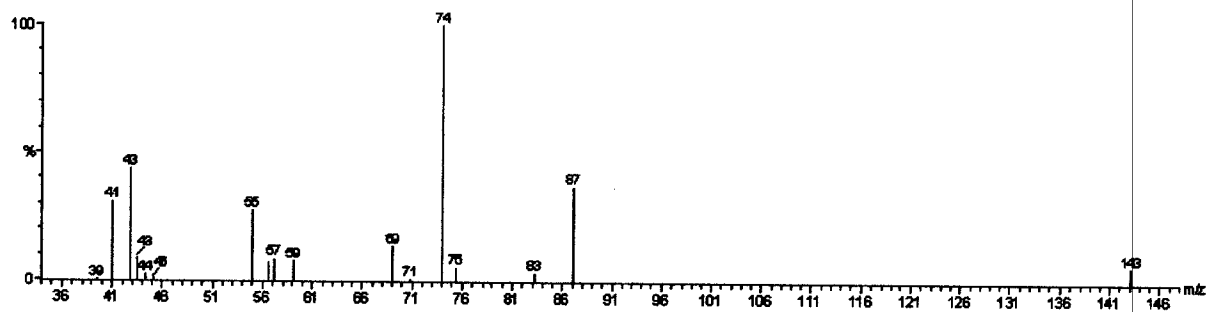
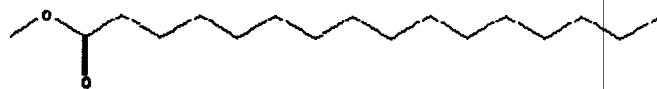
- Tétradécanoate d'éthyle



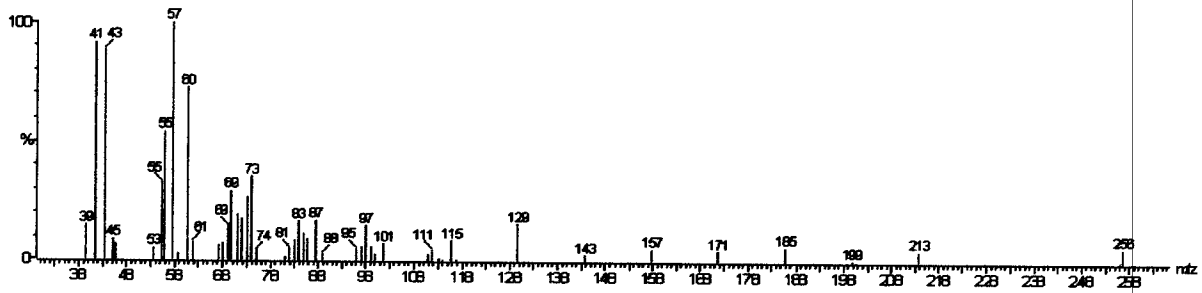
- Pentadécanoate d'éthyle



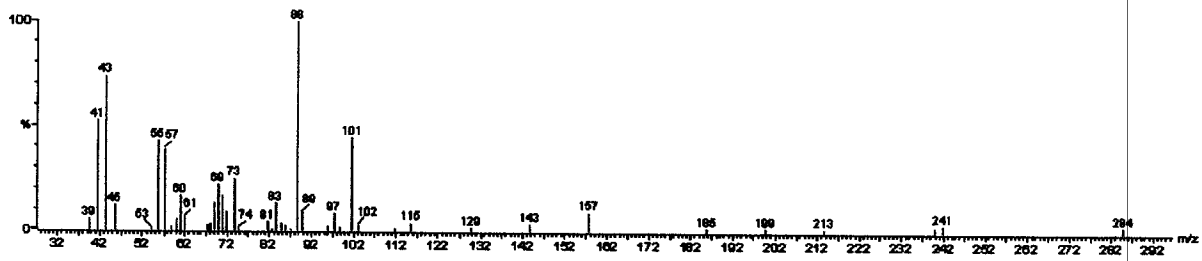
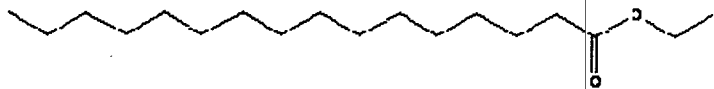
- Hexadécanoate de méthyle



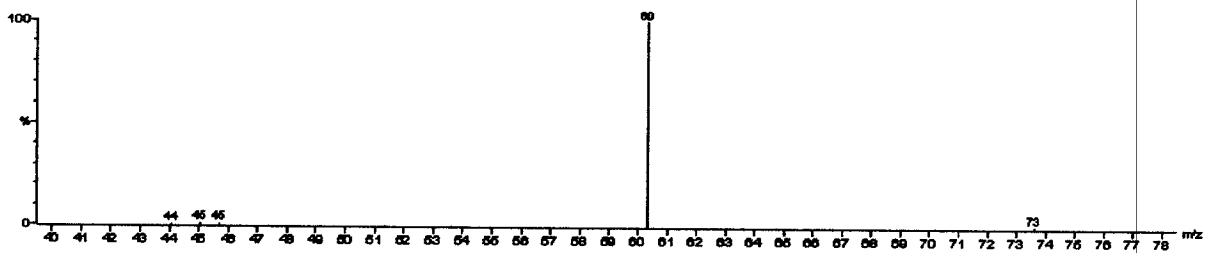
- Acide hexadécanoïque



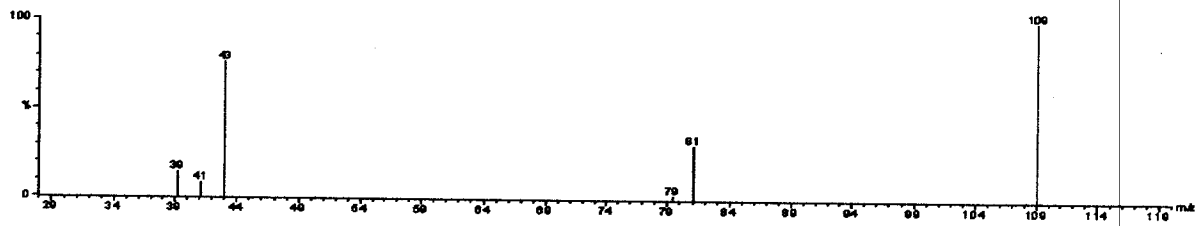
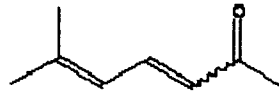
- Hexadécanoate d'éthyle



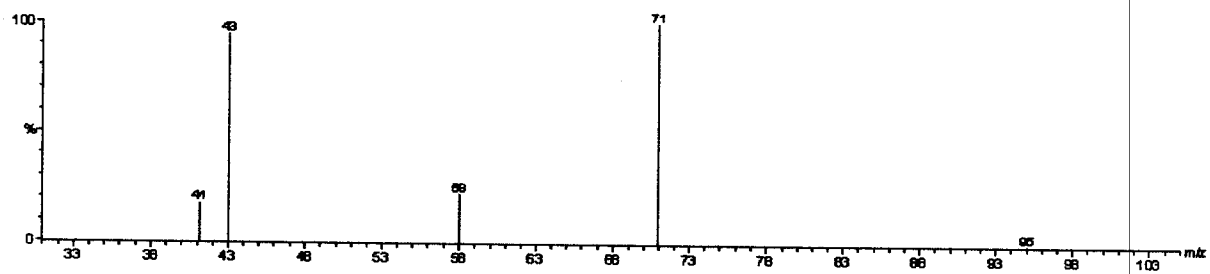
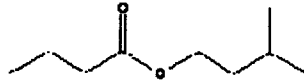
- Acide butanoïque



- 6-méthyl-3,5-héptadiène-2-one



- Butanoate de 3-méthylbutyle



- Trans, cis-2,6-nonadièn-1-ol

