



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DEFES

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques

**Biotechnologie et Valorisation des Phyto-
Ressources**

**Caractérisation Biochimique et
Physicochimique des extraits de
produits terroir : Cas de *Zizyphus
lotus* et *Phoenix dactylifera***

Présenté par : ALAOUI HAMZA

Encadré par : Pr. Lahsen EL GHADRAOUI

Soutenu le : 11/06/2019

Devant le jury composé de :

- Pr. Lahsen EL GHADRAOUI: Encadrant
- Pr. EL Ouazna BOUCHAM MA : Examinatrice

Année universitaire 2018/2019

DEDICACES

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers qui sont mes parents.

Mamère pour son affection, sa patience, sa compréhension, son écoute et son soutien.

Mon père pour être mon plus haut exemple de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras.

A mon petit frère que je lui souhaite du succès et de la bonne vie.

A tous mes collègues de promotion 2018/2019 de License « Biotechnologie et Valorisation des Phyto Ressources (BVPR) ».

A tous les membres du laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement (EFE)

A toute ma famille et amis.

Et à toute autre personne que j'ai involontairement oublié de citer.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce rapport.

*Tout d'abord, j'adresse mes remerciements à mon cher professeur, **El GHADRAOUI Lahsen** de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, qui m'a beaucoup aidé dans ma recherche de stage. Son écoute et ses conseils m'ont permis de bien organiser mon travail au quotidien, et je suis reconnaissant pour sa bonne humeur, son dévouement, son temps accordé, et surtout pour l'opportunité d'effectuer mon stage au sein de son laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement EFE, ce qui m'a permis de découvrir le monde de la recherche et la connaissance de nouvelles personnes.*

*Je tiens aussi à remercier le Professeur **EL Ouazna BOUCHAMMA** qui est accepté de sacrifier une partie de leur temps pour juger ce travail.*

*Je tiens à remercier vivement, **BENIDIR Meryem** et **EL MASSOUDI Soukaina** ; Doctorantes au sein du laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour leur encadrement, aide, le partage de leur expertise au quotidien et leur temps accordé.*

Je remercie également tous mes collègues du Laboratoire EFE pour leur esprit d'équipe et leur bonne humeur.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont porté de l'aide durant toute ma vie pour en arriver là, ma famille et surtout mes parents et aussi mes amis.

RESUME

La présente étude a été initiée dans le but de valoriser la pulpe de deux fruits *Zizyphus lotus* L. et *Phoenix dactylifera* L. par une caractérisation biochimique (métabolites primaires et secondaires) et physicochimique (Teneur en eau, en cendres et pH). La préparation des extraits a été effectuée en utilisant trois méthodes d'extraction (décoction à reflux, macération à froid et soxhlet).

Les résultats obtenus ont montré que la technique de la décoction à reflux est la plus efficace, car ils nous donnent des concentrations plus importantes en métabolites primaires (lipides, Protéines, sucres totaux et réducteurs) et en métabolites secondaires (composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés), pour cela nous recommandons d'utiliser cette technique comme méthode d'extraction de ces molécules.

Mots clés : *Phoenix dactylifera* L., *Zizyphus lotus* L., Décoction à reflux, Macération à froid, Soxhlet, Métabolites primaires et secondaire

Introduction

Le Maroc a connu, grâce à sa situation géographique stratégique, des civilisations successives ayant eu une influence marquante, non seulement sur le plan humain, mais également sur le plan environnemental. Ceci a fait de ce pays un grand réservoir de ressources naturelles. La diversité culturelle transmise à travers les générations et la grande richesse en biodiversité reflétée par la multitude des écosystèmes écologiques, ont fait du Maroc une vitrine riche en produits de terroir dont plusieurs sont endémiques.

Le jujubier ou *Ziziphus lotus* L. communément appelé au Maroc "Sedra" se trouve dans toutes les rives de Sud de la méditerranée et s'étend jusqu'en Afghanistan (Paris et Dillemann, 1960). Ses fruits sont très connus par leur richesse en métabolites secondaires à savoir : les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins. Cette caractéristique fait de *Ziziphus lotus* L. une de valeur universelle (Borgi et Chouchane, 2006).

Le palmier dattier ou *Phoenixdactylifera* L. est une plante très répandue dans tous les grands ensembles désertiques chauds du globe. Cette plante constitue une bonne source de fibres alimentaires. Ainsi sa richesse en glucides lui a fait une des fruits qui contient des éléments de haute teneur énergétique, sans négliger leur apport en vitamines (Vit C, Provitamine A ...) et en sels minéraux (Mg, Ca, P...) (Suksamrarn et al., 2005). De plus, la valeur nutritive de la variété sèche de *Phoenix dactylifera* L. lui confère des bienfaits dans le domaine médical à savoir la régulation de la digestion et le transit intestinal, ainsi qu'une prévention contre les maladies cardio-vasculaires (Abdel-Zaher et al., 1985).

ces deux fruits sont mal valorisés dans le côté pratique de la recherche scientifique car ils ne sont pas caractérisés par des propriétés permettant de les distinguer par rapport aux autres fruits par conséquent, il était difficile d'améliorer leur commerce international et leur transformation en industrie agroalimentaire. D'où l'objectif de ce travail qui consiste à mettre la lumière sur les dattes et le jujubier par une caractérisation biochimique et physicochimique (PH, Teneur en eau...) afin de déterminer leurs qualités nutritionnelles dans le but de les utiliser après dans le domaine d'agroalimentaire.

-Pour ce faire, nous avons dans un premier temps mené une recherche bibliographique portant sur les produits terroirs du Marocain que des généralités sur les deux espèces *Phoenix dactylifera* L. et *Ziziphus lotus* L. ;

-Dans un deuxième temps nous avons les protocoles expérimentales utilisées pour l'obtention des extraits des deux fruits étudiés ainsi que les analyses effectuées.

-Dans un dernier lieu, nous avons donné les résultats obtenus avec leur discussion, puis en finir par une conclusion générale.

I. Généralités

Actuellement les produits du terroir sont font l'objet d'enjeux économiques, sociaux et environnementaux et par conséquent, ils jouent un rôle important dans le développement de notre pays. Les produits du terroir sont donc les supports d'un développement viable, localisé et ouvert sur le monde, qui s'inscrit dans une perspective de durabilité. Dans cette perspective, le Maroc accorde une importance à ces produits du terroir. On peut constater cette nouvelle tendance dans « le plan du Maroc vert » lancé en 2008. Maintenant, le Maroc dispose d'une diversité et d'une richesse des produits du terroir dans ses montagnes et ses oasis et qui sont caractérisés par leur qualité et leur originalité. De plus, plusieurs organismes non gouvernement dont les coopératives sont spécialisées dans la production, la transformation et la commercialisation des produits du terroir ont été encouragées par l'état par des subventions financières et techniques, ces produits donnent une valeur à notre pays. D'une part, ils sont au centre des préoccupations des consommateurs, surtout ceux qui cherchent l'authenticité, l'originalité et la sécurité alimentaire. D'autre part, ils ont permis aux producteurs de mettre en valeur leur produit (MAPM, 2009).

I.1.Développement des produits du terroir au Maroc

Par sa grande diversité des paysagère du Maroc s'étalent(oasis, montagne, littoral et désert), le Maroc est classé comme deuxième pays méditerranéen riche en biodiversité (Terroirs et origine, 2010). Cette richesse naturelle a permis une diversification des produits du terroir et leurs typicités. Ces produits ont permis à ces régions, qui sont considérées toutefois, comme marginales et difficiles, à se positionner dans les marchés (Akhannouch, 2010).

En autre, le Maroc est considéré comme « Un grand réservoir naturel de ressources phylogénétiques et animales. De plus la production nationale de produits du terroir est d'environ 2,3 millions de tonnes par an, dont les trois quarts sont assurés par 5 régions (SoussMassa-Draâ, Marrakech-Tensift-El Haouz, Meknès-Tafilalet, Guelmim-Es Smara et l'Oriental). (MAPM, 2009).

I.2.Etude comparative de la consommation des produits terroirs au Maroc et à l'étrangers

Pour les consommateurs marocains, on relève une demande importante des produits typiques (près de 80 % disent en consommer), mais les signes de qualité demeurent peu connus ; le consommateur marocain ne percevant dans ces signes qu'une garantie globale de qualité (Issam M, 2004).

Les consommateurs étrangers (type touristes ou résidents) sont encore plus réactifs aux produits marocains du terroir, Ils sont relativement plus connaisseurs des différents signes de qualité, sensibles à leur développement qui, selon eux, améliorerait leur perception des produits marocains (Issam M,2004).

II. Généralités sur palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*)

II.1. Classification

Le palmier dattier est un arbre rustique s'adaptant aux régions les plus arides du monde. C'est une monocotylédone arborescente, de la famille des palmacées ou phoenicacées et du genre Phoenix. Il constitue la principale source de vie de la population saharienne.

La position systématique du *Phoenix Dactylifera L.* dans le règne végétal est bien montrée dans le tableau ci-dessous :

Tableau I : classification de *Phoenix Dactylifera L*

Règne	Végétal
Groupe	Spadiciflores
Tribu	Phoenicées
Ordre	Palmale
Famille	Palmacées
Sous-famille	Coryphoïdées
Genre	Phœnix
Espèce	<i>Dactylifera L.</i>

Le genre Phœnix comporte au moins douze espèces, la plus connue est le dactylifera L. (Espiard,2002).

II.2. Importance et répartition du palmier dattier au Maroc

En effet cet arbre est cultivé dans les zones arides et semi-arides présentant des intérêts écologiques, agronomiques et socio-économiques pour la population de ces régions, en raison de fournir non seulement des fruits « dattes » mais aussi des matériaux destinés à l'artisanat, la construction ou à la production d'énergie selon (Tenberg ,2012). En ce qui concerne les conditions climatiques et écologiques que ce symbole d'agriculture oasienne exige, il y a un proverbe arabe qui les résume : « le palmier-dattier vit les pieds dans l'eau et la tête au soleil » (Muriel Gros de Balthazard, 2012). La production et la maturation des fruits requièrent alors un été suffisamment long et chaud et exempt de pluies intempestives qui détériorent mais demande de l'eau au niveau des racines (Zaid et Arias-Jiménez, 1999)(Figure 1).

Notamment Les régions de production des dattes au Maroc sont réparties principalement le long des vallées du Ziz et du Drâa.



Figure 1: palmier dattier de *Phoenix dactylifera* L

II.3. Variétés

La datte est l'un des fruits les plus importants dans le monde et spécialement dans les pays Islamiques qui consomment beaucoup de dattes surtout au mois de Ramadan. 70 % de la Production des dattes dans le monde est produit par l'Egypte, l'Iraq, l'Arabie Saoudite, Iran, Pakistan et l'Algérie. (Nezan EL Din, 2000). Au Maroc on en distingue variétés des dattes à savoir: *Tarzawa* ; *Abourar* ; *Boufeggous* ; *Bouskri* ; *Bouslikhène* ; *Degletbaida* ; *Degletnour* ; *Jihel* ; *Khalt* ; *Klane* ; *Lulu* ; *Mejhoul* et *Rassltmer*.

- ***Boufeggous***, appelé aussi (*Fegousse* et *Bofkousse*): la variété est d'une consistance demi-molle. Elle reste la meilleure variété de la région d'Ouarzazate et Zagora. Il s'agit là de la même variété de datte. On lui attribue des vertus fortifiantes pour les femmes après accouchement. Dans les régions du sud marocains, les dattes sont utilisées dans des recettes pour les bébés.
- ***Bouskri*** : elle se caractérise par sa consistance demi-sèche et un goût agréablement sucré.
- ***Al Mejhoul*** : demeure de loin la variété la plus noble et la plus prisée. Majhoul veut dire inconnu en arabe. Selon les experts, les graines de Majhoul proviendraient des Etats-Unis. Comme la forme et le goût de la datte étaient dans le temps méconnus des bédouins, en raison de sa provenance d'outre-Atlantique, ils l'ont baptisée Majhoul.
- ***Jihel*** : Il est souvent utilisé par les femmes rurales pour la régulation de l'hypertension artérielle.

II.4. Description de fruit

Le Palmier dattier, dénommé par Linné depuis 1734 (*Phoenix dactylifera L.*), est une plante pérenne et lignifiée. C'est une espèce dioïque diploïde ($2n=36$), angiosperme et monocotylédone. C'est une baie, de forme généralement allongée, ou arrondie. Elle est composée d'un noyau ayant une consistance dure, entouré de chair, constituant la partie comestible de la datte (Figure 2), il est appelé aussi pulpe et se compose de :

- **Péricarpe** ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau ;
- **Mésocarpe** généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et est de couleur soutenue ;
- **Endocarpe** de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée, entourant le noyau (Espiard, 2002). Les dimensions des fruits sont très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes, en fonction des variétés. Leur couleur va du blanc jaunâtre au noir, en passant par les couleurs ambre, rouges, brunes plus ou moins foncées (Djerbi, 1994).



Figure 2: Description de la datte

II.5. Aspect économique

La région méditerranéenne est une forte productrice de dattes, est aussi le lieu d'échanges commerciaux importants à l'échelle mondiale. Les pays de la rive Sud ont produit en 1993 près de 30% de la récolte mondiale ; la somme de leurs exportations a représenté, la même année, plus de 40% du total des échanges de dattes dans le Monde ; et plus de 95% des exportations de cette rive Sud sont absorbées par l'Europe (Nejjar, 1994). Cependant, au Maroc il y a de nombreuses contraintes dans la commercialisation de ce produits, dont on cite :

- Présentation la nature des dattes qui reste, et qu'est peu satisfaisante, principalement due au mode traditionnel de récolte, de stockage et de conditionnement ;
- Des problèmes de conservation liées en particulier à des dattes molles et à l'absence de traitement des dattes, aussi bien avant qu'après la récolte ;

- Un faible pourcentage de production commercialisable qui s'explique en particulier par la relative importance des variétés de faible qualité marchande ;
- La commercialisation qui reste mal organisés ;
- Une concurrence intense au niveau du marché interne, due à la présence des produits importés.

II.6. Composition chimique des dattes

La chair de la datte mûre est composée de sucre, d'eau et de lipides de protéines et d'éléments minéraux. Elle est essentiellement riche en eau et en sucre qui confère à la datte sa texture et la consistance de sa chair (Estanov, 1990 et Djerbi, 1994).

La teneur en est un rôle important dans le degré de consistance de la datte [(molle (30 % d'eau), demi-molle(20-30 % d'eau) et sèche (inférieur à 20 % d'eau)], celle-ci varie au cours des stades de maturation de la datte et en fonction des variétés(Najeh et al., 1999).

La pulpe de datte contient du saccharose et des sucres en C6 (glucose, fructose...). Certaines dattes sont totalement dépourvues de saccharose ; par contre ; d'autres en contiennent une proportion élevée (Munier, 1973).La forte teneur en sucres de la pulpe de datte confère à ces fruits une grande valeur énergétique. Ainsi la pulpe de la datte est riche en éléments minéraux (Tableau 2). Les cendres représentent 2% du poids à l'état frais des dattes mûres (Cleveland, 1932). La valeur énergétique apportée par ces sucres est très importante (environ 3000 calories par kilogramme de dattes) (DJERBI,1994).

Tableau II:Teneur en éléments minéraux (Djerbi, 1994).

Les éléments minéraux	Teneur en mg / 100gr de datte
Potassium	754 – 649
Chlore	290 – 268
Phosphore	63,8 – 54,8
Calcium	58,8 -58,3
Magnésium	58,5 – 50,3
Soufre	51,8 – 43,8
Sodium	4,8 – 4,1
Cuivre	0,21 – 0,18

Les protéines et les lipides se trouvent en faibles quantités dans les dattes. Les lipides sont concentrés dans l'épicarpe et leur concentration varie entre 2,5 à 7,5 % et les teneurs varient selon le stade de maturation et la variété, de plus la matière grasse contenue dans la pulpe de la datte joue un rôle aussi bien physiologique que nutritionnel. Rôle qui se traduit par la protection du fruit (Barreveld, 1993). Quant à la teneur en protéines elle varie entre 1 et 3 %. Et joue un rôle dans le brunissement non enzymatique des dattes (réaction de Maillard). Les teneurs en acides aminés varient selon les variétés et sont de 256 et de 204 mg respectivement pour Deglet Nour et Allig (Barreveld, 1993). D'autres constituants comme les vitamines, les fibres sont présents aussi dans la datte à des teneurs variables, dépendent de nombreux facteurs.

II.7. Usage traditionnel des dattes

Dans le traitement traditionnel, les populations oasiennes des régions phœnicicoles se sont mises au point des préparations médicinales à base de dattes *Phoenix dactylifera* L. et de leurs sous-produits. Une de ces préparations, l'infusion de poudre de noyaux de dattes, est recommandée dans le traitement de la lithiase urinaire à cause de son fort pouvoir diurétique (Jungers et al., 1999).

III. Jujubier (*Zizyphus lotus* L.)

III.1. Classification

Tableau III: Classification de *Zizyphus lotus* L.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Celastrales
Famille	Rhamnaceae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus Lotus</i> L.

Le genre de *Zizyphus* regroupe plusieurs espèces, dont on distingue :

- *Zizyphus Mauritiana* L. : jujubier indien c'est un arbuste à rameaux cotonneux et à feuilles tomenteuses dessous ; fruits très petits ;

- *Zizyphus spina-christi* L. Wild. : C'est un arbuste, très épineux avec des rameaux flexibles, grêle disposée en zigzag pouvant atteindre 6 m ; à feuilles ovales glauques et à petits fruits globuleux, plus ou moins ovoïdes (d'environ 15 mm), à pulpe charnue comestible,
- *Zizyphus lotus* L. appelé également jujubier des Lotophages ou jujubier de Berbérie pousse sur les rives sud de la Méditerranée jusqu'en Afghanistan (Benammar, 2011).

III.2.Description botanique

Zizyphus lotus (jujubier) est un arbuste fruitier, épineux appartenant à la famille des Rhamnacées (Rsaissi et Bouchache, 2002) (figure3). Ses feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières (Figure 3). Les fleurs sont jaunes, pentamères et groupées en inflorescence cymeuses. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux (Rsaissi, 2013 ; Ghalem, 2014). Ainsi que sont cueillis parfaitement murs en septembre-octobre. C'est la période au cours de laquelle ils se détachent facilement (Bonnet, 2001) (Figure 4).



Figure 3 : plante de *Zizyphus lotus* ou jujubier



Figure 4 : Fruits de *Zizyphus lotus* L.

III.3.Composition chimique de fruit.

Le fruit de *Z. lotus* contient des quantités importantes des antioxydants (phénols, flavonoïdes, tanins, etc...) ainsi que d'acide glutamique, de matières minérales, de vitamines, de fibres, d'acides aminés, de triacylglycérol, supposées être responsables pour la plupart de ses avantages pour la santé (Abdoul et al., 2013 ; Rsaissi et al., 2013).

Pour les polyphénols constituent le composé principal, avec des quantités allant de 297 à 4078,2 mg / 100 g de matière sèche ; de plus, les flavonoïdes et les tanins sont présents en quantités modérées, respectivement 122 et 33 mg / 100 g (Ghazghazi et al., 2014).

Concernant la pulpe contient des fortes quantités de sucres solubles (10,55 g / 100 g), de fibres (4,84 g / 100 g), de matières minérales (3,2 g / 100 g) et de protéines (1,18 g / 100 g) (Abdeddaimet al.,

2014), en tenant compte des quantités stables de tanins (922 mg / 100 g) et des quantités modérées de polyphénol (325 mg / 100 g) (Rsaissi et al., 2013).

De plus la pulpe de *Z. lotus* est riche en vitamine C jusqu'à 190,65 mg / 100, une petite quantité de caroténoïdes (1,47 mg / 100) n'a été trouvée que dans la pulpe du *Z. lotus*. Les vitamines B1 et B2 étaient présentes dans les graines de *Z. lotus* avec 0,03 et 0,08 mg / 100 g.

Ces données établissent que *Z. lotus* pourrait être considéré comme une source de nombreuses vitamines pour l'alimentation humaine (Chouaibi et al., 2012).

III.4. Usage traditionnel de fruit.

Le fruit de *Z. lotus* est largement utilisé dans la médecine traditionnelle, en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, ainsi plusieurs parties de la plante sont administrées en tant que :

- Agent sédatif, pectoral, émoullient en utilisant les fruits, feuilles et/ou racines en décoction et macération (Kemassi et al., 2014 ; Boual, 2015) ;
- Agents analgésique, tonique et anti-inflammatoire (El Hachimie et al., 2017 ; Claudine, 2007 ; Borgi et al, 2007) ;
- Agents antidiabétiques comme hypoglycémiant en utilisant les racines en décoction (Allali, 2008) ;
- Il est également, utilisé pour atténuer les maux gastro-intestinaux (Bakhtaoui et al., 2014) ;
- Contre les piqûres des vipères au Sahara en utilisant les feuilles (Benchalah et al., 2004) ;
- Insomnie (Soulaymane, 2016)
- Agent diurétique (Bellakhdar, 1997 ; Hseini et Kahouadji, 2007).

L'importante utilisation des différents organes de la plante semble être due à la composition chimique. Ainsi, il a été montré que les flavonoïdes et les saponines extraits de l'écorce des racines du *Z. lotus* ont une inhibition maximale de l'œdème chez les rats (Borgi et al., 2006). En outre les fruits de *Zizyphus lotus* ont été décrits, comme adoucissant et entrent dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaires. De même, autres effets bénéfiques de la plante ont été soulignés, telles que la poudre des feuilles sèches et des fruits est appliquée dans le traitement des furoncles (Borgi et al., 2007). En outre, l'écorce des racines de *Z. lotus* est utilisée dans la médecine traditionnelle comme traitement du diabète (Benammar, 2010).

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

Les échantillons de fruits de *Zizyphus lotus* L. et de *Phoenix dactylifera* L. sont achetés auprès des commerçants de la ville de Fès. Les fruits ont été nettoyés, séchés puis broyés à l'aide d'un mortier et tamisés pour obtenir une poudre fine et homogène, servant pour la préparation des extraits,

à propos les dattes, elles sont séchées, nettoyés puis broyés à l'aide d'un mortier pour obtenir une pâte (Figure 5).



Figure 5: Préparation des fruits de *Ziziphus lotus* L. et *Phoenix dactylifera* L.

II. Méthodes

1. Préparation des extraits

Dans le but d'obtenir des essences végétales à partir de la pulpe de deux fruits, nous avons utilisé trois techniques d'extraction à savoir :

1.1. Macération à froid

Principe : La macération est un procédé qui nécessite à laisser séjourner une plante dans un solvant à froid pour qu'on puisse extraire les composés solubles (arômes, principes actifs). La macération peut se faire dans une solution alcoolique, de l'eau, de l'huile...

Protocole : une quantité de 10 g de la matière végétale de deux fruits a été mélangé avec 100 ml de l'eau distillée, au quelle est ajouté un barreau magnétique dans l'erlenmeyer et laisser le mélange en agitation pendant 6 heures (Figure 6), après filtration à l'aide d'un papier filtre, le filtrat obtenu a été déposé dans l'étuve à 45°C et conservé à l'abri de la lumière

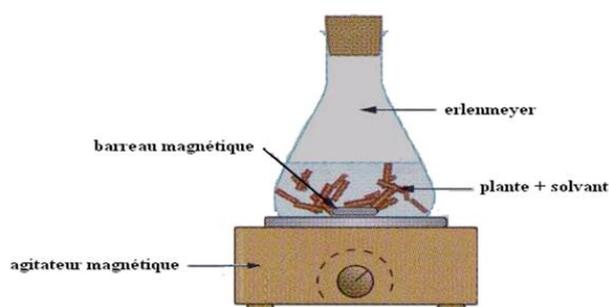


Figure 6: Macération à froid pour l'extraction des composés solubles

1.2. Décoction à reflux

Principe : La décoction à reflux est une méthode d'extraction des principes actifs ou bien des arômes d'une préparation végétale par dissolution dans l'eau bouillante. Elle s'applique généralement, aux parties les plus dures des plantes : racines, graines, écorce, pulpe ou aux plantes qui supportent bien les hautes températures (même supérieures à 100°C).

Protocole : Pour réaliser une décoction, nous avons préparé 10g de la matière végétale, puis les mettre dans un ballon auquel, nous avons ajouté 100ml de l'eau distillée. On adapte ensuite le ballon dans un montage à reflux pendant 6 heures (Figure 8). À la fin, on laisse tiédir et on filtre le liquide. Le filtrat obtenu a été concentré dans l'étuve à 45°C et conservé à l'abri de la lumière.

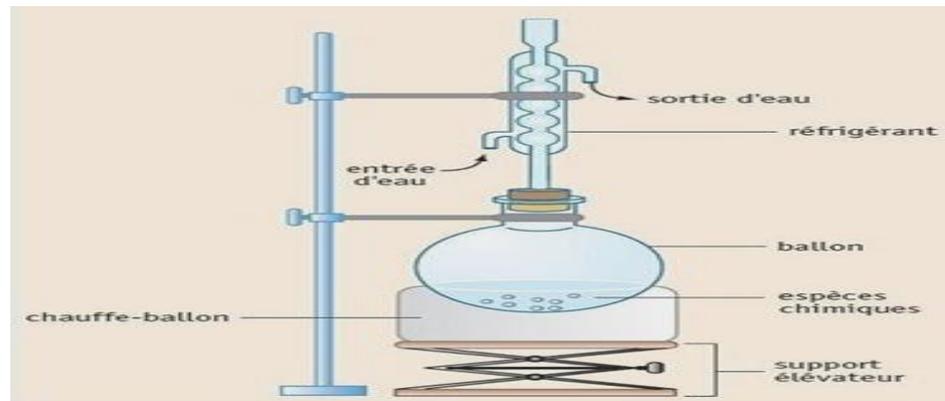


Figure 7: Décoction à reflux pour l'extraction des composés solubles

1.3.Extraction au Soxhlet

Principe : Soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion du solvant pur, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant.

Protocole : elle consiste à placer dans un cartouche 20 g du matériel végétal de deux fruits pour une extraction aqueuse (200ml), pendant 24 heures à une température de 60°C, puis on filtre l'extrait et le concentre dans une étuve à 45°C. L'extrait obtenu a été conservé à l'abri de la lumière (Figure 9).



Figure 8 : :Extraction par Soxhlet

II. Caractérisation biochimiques des extraits

1. Dosage des métabolites primaires

Nous avons procédé à un dosage des métabolites primaires (lipides ; protéines ; sucres totaux ; sucres réducteurs et non réducteurs) dans les extraits végétaux issus des deux fruits.

1.1. Dosage des sucres totaux (ST) et réducteurs (SR)

Le dosage des sucres totaux et réducteurs est effectué par le réactif de DNS (Alberta Araujo et al., 2004). Pour les ST, il nécessite une hydrolyse acide par l'HCl qui permet la rupture de toutes les liaisons glucidiques dans le polysaccharide. La méthode consistait d'abord de préparer les extraits afin, de les hydrolyser (1 ml d'extrait + 99 ml ED) L'HCL (10ml). On adapte ensuite le ballon dans un montage à reflux, pendant 2 heures pour chaque extrait. puis nous avons neutralisé les extraits avec 10 ml de NaOH. Après une centrifugation des extraits, 1 ml de la solution à doser a été mélangé avec 1 ml du réactif (DNS). les échantillons ont été portés à l'ébullition, pendant 20 min, après refroidissement, on ajoute 1 ml de l'eau distillée. L'absorbance a été mesurée à 540 nm. La concentration des sucres est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec le glucose avec des concentrations allant de 0.25 à 1 mg/ml (Figure 12).

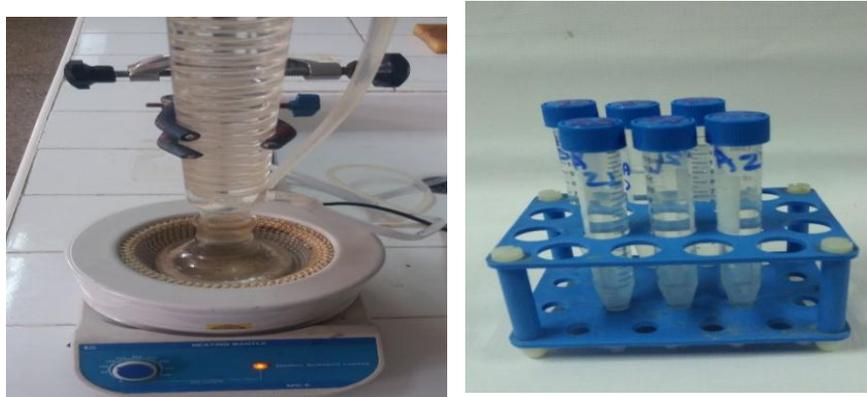


Figure 9: Dosage des sucres

1.2. Dosage des protéines

Les protéines ont été dosées par le réactif de Gornall (Hainque et al., 2008). En effet 1 ml d'extrait a été mélangé avec 4 ml du réactif. Le mélange a été mis à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 540nm (Figure 13). La courbe d'étalonnage est faite à l'aide d'une solution mère de sérum albumine d'œuf à 10g/l, avec des concentrations allant de 0.02 à 0.1 mg/ml.



Figure 10: Dosage des protéines

1.3. Extraction des lipides

10g de la pulpe de deux fruits a été mélangé avec 100ml de l'hexane (Folchet al., 1957) par les trois méthodes d'extraction (macération à froid, décoction à reflux et Soxhlet) pendant 6 heures. Les échantillons ont été filtrés puis mis dans l'étuve à 45°C, afin d'évaporer le solvant d'extraction. Le rendement (%) des lipides dans les dattes et jujube est estimé selon la formule suivante :

$$\% \text{ des lipides} = ((M_1 - M_2) / M_3) * 100$$

Avec :

M1 : poids du bûcher contenant les lipides

M2 : poids du bûcher vide

M3 : poids de la datte

2. Dosage des métabolites secondaires

3.1. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode d'Atanassova et ses collaborateurs (2011) celle-ci consiste à mélanger 1 ml de l'échantillon, dix fois dilué avec 1.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 1.5ml d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (20%). L'ensemble est agité au vortex, puis placé à l'obscurité pendant 40 mn, l'absorbance a été déterminée à 725 nm. La gamme d'étalonnage réalisée par des concentrations de l'acide gallique, est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique, par milligramme d'extrait (mg EAG /mg d'extrait) (Figure 10).

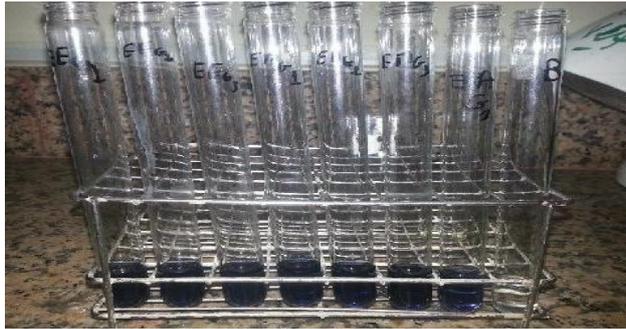


Figure 11: Dosage des composés phénoliques

3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium, décrite par Barros et ses collaborateurs (2011). En effet, 0,3 ml d'une solution de NaNO_2 (5%) est mélangé avec une fraction aliquote 1 ml d'extrait. Après 5 mn, nous avons ajouté 0,3ml d'une solution d' AlCl_3 (10%). Après 5 mn, 2ml de NaOH (1M) sont ajoutés et le volume total a été complété à 10 ml avec de l'eau distillée. L'absorbance a été mesurée à 510nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en μg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/ml}$ d'extrait) (Figure 11).



Figure 12: Dosage des flavonoïdes

3.3. Dosage des tanins condensés

Pour déterminer le taux des tanins condensés, nous avons utilisé la méthode de Ribereau-Gayon et Stonestreet (1966) qui consiste à mélanger 1ml d'extrait dilué 10 fois avec 1,5ml d' HCl et 0,5 d'eau distillée. Le contenu des tubes est divisé en deux (tube A et tube B). Le tube A est laissé à la température ambiante alors que le tube B est porté au bain marie (100°C) pendant 30 mn. Les absorbances des tubes A et B sont lues à 550 nm.

Les résultats sont exprimés par la relation suivante :

$$T \text{ (g/l)} = (\text{DO TB} - \text{DO TA}) \times 19,33$$

Avec :

DO TB : Densité optique de tube B

DO TA: Densité optique de tube A

III. Caractérisation physicochimique des extraits

III.1. Détermination du pH :

L'un des moyens courants de faire une mesure du pH, consiste à réaliser une méthode potentiométrique. Le matériel utilisé est un bécher de 50 ml, un agitateur magnétique et un pH-mètre. Après étalonnage du PH -mètre à la température de mesuré, On détermine le pH de la prise d'essai ; deux déterminations sont effectuées au moins sur le même échantillon a étudié (Figure 14)



Figure 13: Détermination de PH

III.2. Détermination de la teneur en eau :

La teneur en eau a été déterminée par la dessiccation d'un échantillon de 100g à la température de 105°C, dans une étuve ventilée, jusqu'à la stabilisation du poids (Figure 15). Elle est définie, comme étant la perte de poids subie, lors de la dessiccation (Audigié, 1978).



Figure 14: Boîtes de pétrie contenant les fruits pour la dessiccation

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids, avant et après la dessiccation selon la formule suivante :

$$H \% = \frac{M1 - M2}{PE} \times 100$$

Avec :

H% : Teneur en eau ;

M1 : Poids de la capsule + échantillon avant dessiccation ;

M2 : Poids de la capsule + échantillon après dessiccation ;

PE : La prise d'essai.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$MS \% = 100 - H \%$$

III.3. Teneur en cendres totales

Elle consiste à un passage au four de 2 g d'échantillon broyé dans une capsule tarée à une

température de 550°C, jusqu'à destruction totale de toute particule carbonneuse (couleur grise claire ou blanchâtre) (Figure 16)(Laurent E, 1991).



Figure 15: Cendres

La détermination de la teneur en matière organique se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la carbonisation. La teneur en matière organique est calculée par la formule suivante :

$$\text{MO}\% = \frac{\text{M1} - \text{M2}}{\text{PE}} \times 100$$

MO% : Matière organique ;

M1 : Poids de la capsule et de l'échantillon avant calcination ;

M2 : Poids de la capsule et de l'échantillon après calcination ;

PE : Prise d'essai.

➤ La teneur en cendres est calculée comme suit:

$$\text{Cendres \%} = 100 - \text{MO \%}$$

Résultats et Discussion

I. Rendement des extraits

Les résultats obtenus montrent que le rendement des extraits des deux fruits de *Zizyphus lotus* L et *Phoenix dactylifera* L varient en fonction du technique d'extraction utilisé (Figure 17). Ainsi,

l'extraction par décoction à reflux présente le rendement le plus élevé pour les deux fruits 62,92% et 55,90% par rapport à autres méthodes d'extraction (macération 46,00% pour *Phoenix dactylifera L* et à soxhlet 22,45% *Zizyphus lotus L.*). Les résultats obtenus montre que les techniques d'extraction utilisés a un effet hautement significatif sur le rendement. Ces résultats sont relativement, différents à ceux obtenus par certains auteurs (Rssaisi et *al.*, 2013 ; Hamza et *al.*, 2015).

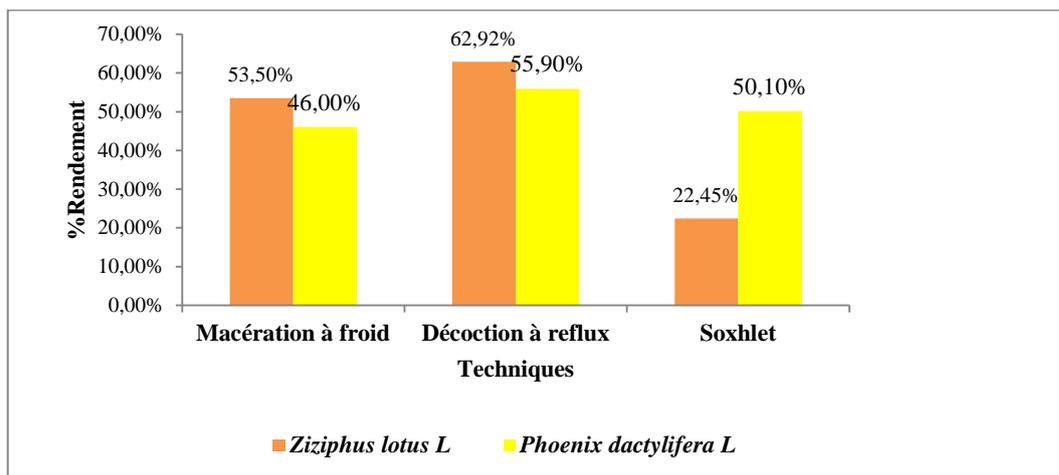


Figure 16 : pourcentage des extraits aqueux dans les deux fruits *Phoenix dactylifera L* et *Zizyphus lotus L*.

II. Caractérisations biochimiques des extraits

1. Dosage des métabolites primaires

1.1. Teneur en protéines

Les résultats obtenus illustrés dans la figure 18, montrent que la teneur en lipide est plus élevée pour *Zizyphus lotus L*. 0.8% que de *Phoenix dactylifera L* 0.5%. De plus l'utilisation de trois techniques d'extractions différentes nous montrons une variation du pourcentage du rendement en lipide. La technique d'extraction par soxhlet et macération nous donnent un rendement plus élevé pour *Zizyphus lotus L* (0.8%) et *Phoenix dactylifera L*. (0.5%) respectivement. Mais la décoction à reflux enregistre une teneur plus faible pour les deux fruits étudiés *Zizyphus lotus L*. 0.6% et *Phoenix dactylifera L*. 0.3%. Nos résultats concernant la teneur en lipide pour *Phoenix dactylifera L*. concordent avec les travaux d'Al-Shahib et ses collaborateurs (2003) avec une teneur 0.2-0.5%. Pour *Zizyphus lotus* nos résultats sont en désaccord avec ceux de Dr. Chebouti-Meziou N et ses collaborateurs en 2017 qui ont signalé que les fruits de jujube ont un rendement en lipide égale à 3,9%, cette différence pourrait être expliquée par les changements des conditions climatiques, qui affectent la composition chimique des plantes. Un autre groupe de recherche (Catoire et al., 1999) on montrée que la teneur des lipides dans les fruits du jujube varie entre 0,1% à 0,3%.

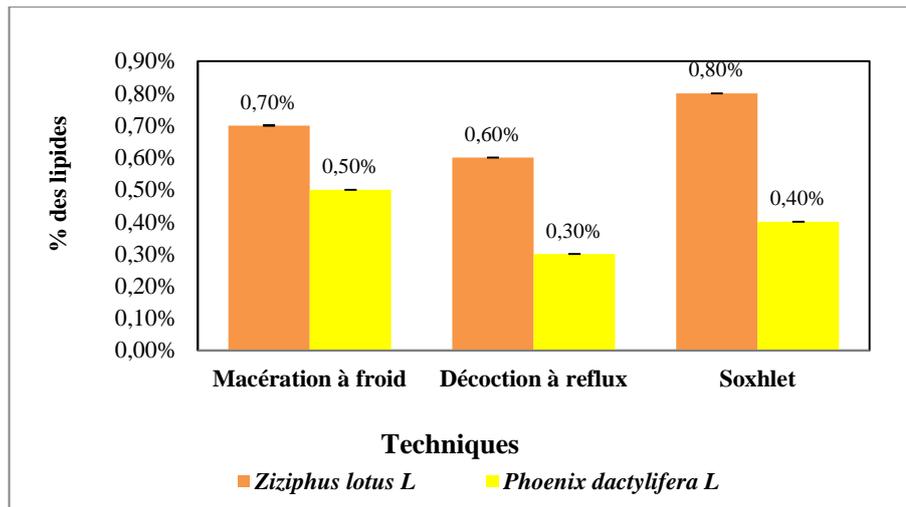


Figure 17: Pourcentage des lipides dans les deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Ziziphus lotus L.*

1.2. Dosage des protéines

Les teneurs en protéines dans les jujubes et les dattes sont présentés dans la figure 19, l'analyse des résultats montre que les fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Ziziphus lotus L.* présentent des concentrations élevées en utilisant la technique de décoction à reflux par rapport aux autres méthodes d'extraction (Macération et Soxhlet) avec des valeurs qui s'oscillent entre une valeur moyenne de $0,11\% \pm 0,03\%$ chez *Phoenix dactylifera L.* et de $0,08\% \pm 0,01\%$ chez *Ziziphus lotus L.* Une étude établie par Noui (2007) qui a signalé que la teneur en protéine renfermée dans *Phoenix dactylifera L.* varie entre 0,38% et 2,5%. À propos de *Ziziphus lotus L.* Une autre étude a été effectuée par Chebouti-Meziou N et ses collaborateurs en 2017 montrant que le pourcentage des protéines dans le jujube égal 1,19%, De plus Catoire et ses collaborateurs en 1999 ont signalé que le pourcentage varie entre 0,8% à 2,1%.

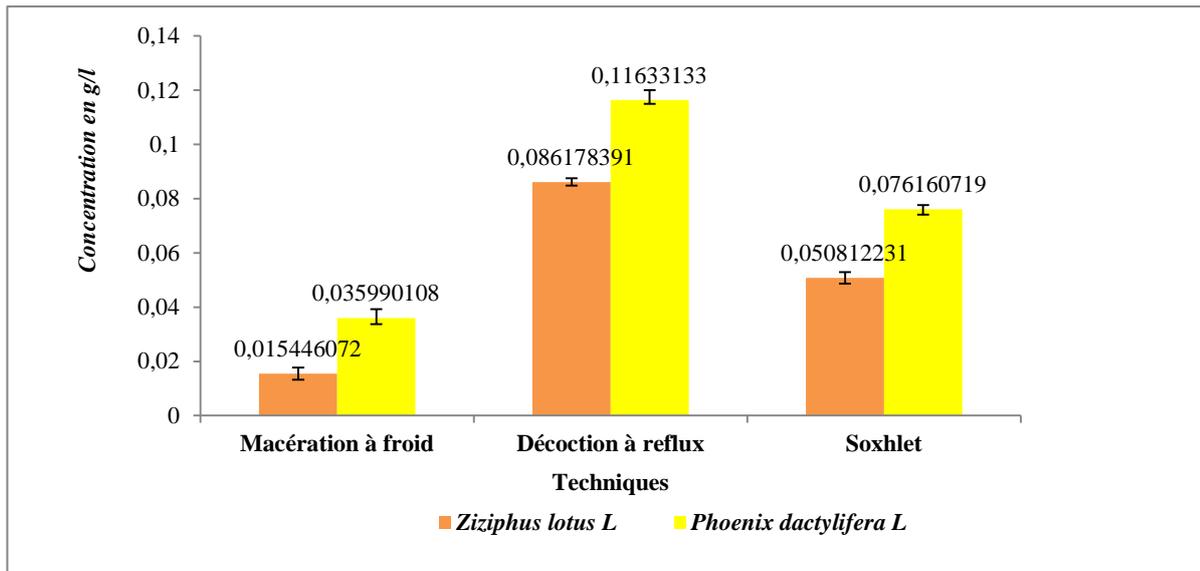


figure 18 :Concentration des protéines dans deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Ziziphus lotus L.*

1.3.Dosage des sucres totaux (ST)

Les concentrations en sucres totaux dans les jujubes et les dattes sont présentés dans la figure 20, d'après l'analyse des résultats on constate que la méthode de décoction à reflux donne les concentrations les plus élevées chez les deux fruits 0.21% pour DP et 0.22% pour ZL, par contre la valeur minimale de PD est signalée par la méthode de macération à froid est 0.023%, et celle de ZL est marquée par l'extraction à soxhlet 0.037%. Une étude comparative des concentrations de sucres totaux en Algérie pour les dattes (variété Deglet Nour) (MIMOUNI Y et al., 2014) montre que le taux de ST est varié entre 0.84% \pm 0.57%, ces valeurs montrent une différence très significative par rapport à notre étude. D'après une étude effectuée par Ghalem (2014) a montré que la pulpe de ZL est la partie la plus riche en sucres (26.00%), d'après une autre étude réalisée par Catoire et ses collaborateurs en 1999 le pourcentage des sucres était entre 20 % à 32 %.

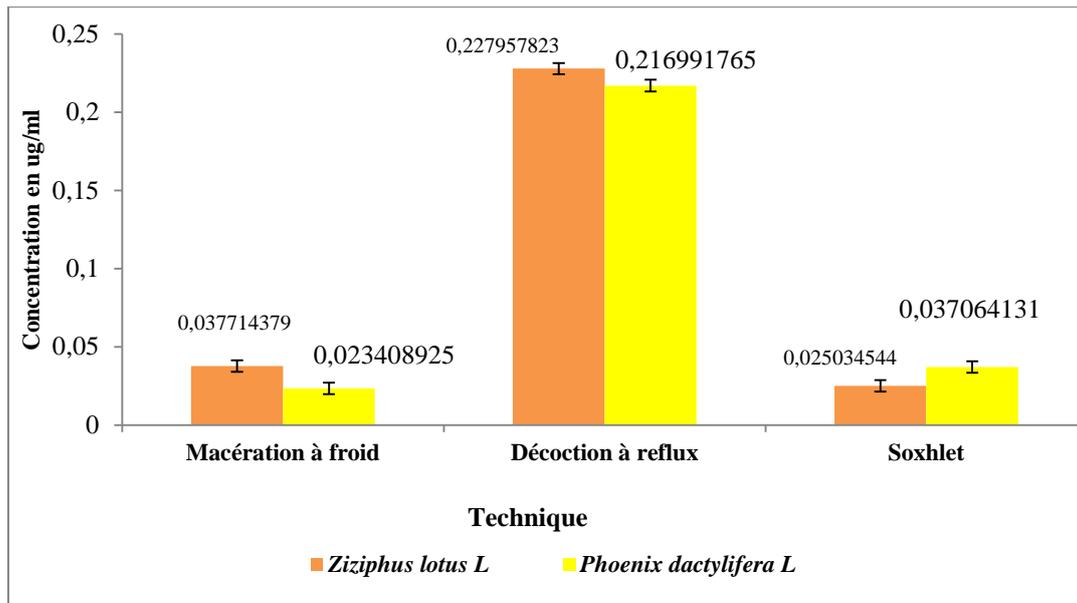


Figure 19: Concentration des sucres totaux dans deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Ziziphus lotus L.*

1.4. Dosage des sucres réducteurs (SR)

Les teneurs en sucres réducteurs dans les jujubes et les dattes sont présentés dans la figure 21. À la lecture des résultats trouvés, le pourcentage des SR pour les dattes le plus élevé est celui de l'extraction par décoction à 0,53%, tandis que la méthode de macération à froid possède la concentration la plus faible à 0,46%. D'autre part, la technique de Soxhlet est la plus efficace avec une valeur de 0,68%, néanmoins pour la décoction à reflux nous obtenons une concentration faible à 0,18%. Nos résultats concernant la teneur en SR pour *Phoenix dactylifera L.* Toutefois, ils semblent très proches de ceux annoncés par MIMOUNI Y. et ses collaborateurs en 2014 pour la variété de Deglet à 0,69% ± 0,35%. Pour le jujubier, il est généralement riche en sucres, que ce soit ST ou SNR. D'après une étude réalisée par GHALEM Meriem page 27 en 2014, qui a trouvée la valeur de 26,00%. À propos des sucres réducteurs (SR), les deux méthodes d'extraction, décoction et Soxhlet, donnent des concentrations importantes pour PD et ZL, 0,53 et 0,68 respectivement.

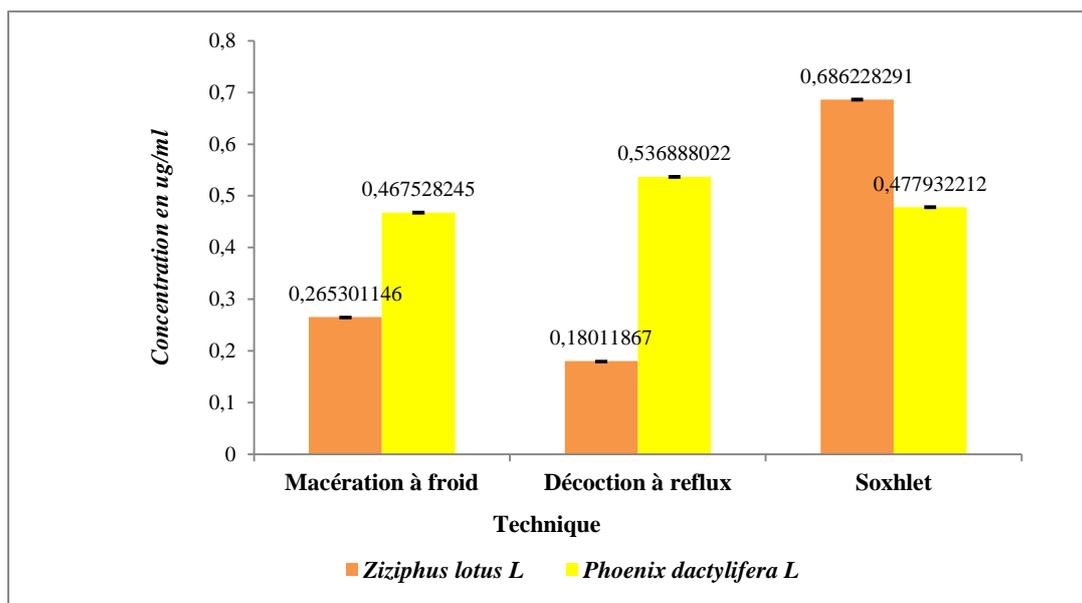


Figure 20 : Concentration des sucres réducteurs dans deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Ziziphus lotus L.*

La teneur en sucres non réducteurs est obtenue par la différence entre la teneur en sucres totaux et les sucres réducteurs présents dans l'échantillon. A propos des sucres non réducteurs (SNR) les deux méthodes d'extraction soxhlet et macération donnent des concentrations importantes pour *Phoenix dactylifera L.* et *Ziziphus lotus L.* 0,029 et 0,031 respectivement. D'après les résultats obtenus des dosage biochimique de métabolites primaires des deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Ziziphus lotus L.* nous recommandons d'utiliser la technique de décoction à reflux pour une méthode d'extraction très riche en protéines, ST, SR, SNR, et les lipides.

2. Dosage des métabolites secondaires

2.1. Dosage des composés phénoliques

Les résultats de la courbe teneur en polyphénols sont donnés par la figures 22, sont marquées que la teneur en polyphénols est donne des concentrations plus importante avec la méthode de décoction pour les deux fruits par rapport aux autres méthodes ; 0,42% pour *Phoenix dactylifera L.* et 0,46% pour *Zizyphus lotus L.* en peut dire que la pulpe des deux fruits est plus riche en polyphénols. La forte teneur des polyphénols dans l'extrait aqueux explique la solubilisation des polyphénols dans l'eau. Concernant le fruit *Zizyphus lotus L.* ces résultats sont différents de ceux La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium.

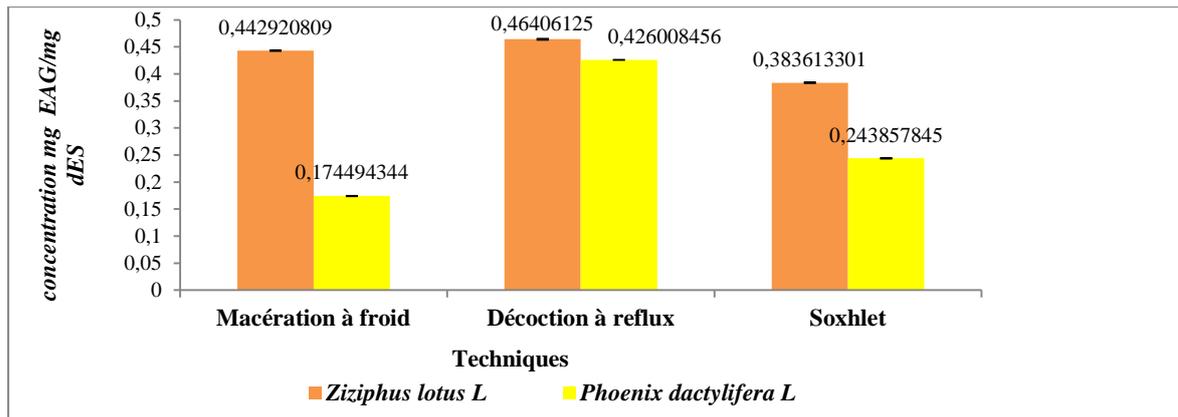


Figure 21: Concentration des composés phénolique dans deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Zizyphus lotus L.*

2.2. Dosage des flavonoïdes

Les résultats obtenus sur la teneur en flavonoïdes en fonction des techniques d'extraction utilisées (figure 23), montrent qu'il y a une différence significative entre les techniques pour les deux fruits d'une part pour *Phoenix dactylifera L.* ($44,6\% \pm 38\%$) et d'autre part pour *Zizyphus lotus L.* ($104,22\% \pm 87,3\%$) (Figure 23). La teneur la plus importante obtenue est celle qui est obtenue par la technique de décoction pour les dattes $44,66\%$; par contre celle de Soxhlet est la plus forte pour *Zizyphus lotus L.* $104,22\%$. Concernant le fruit *Zizyphus lotus L.* ces résultats sont différents de ceux mentionnés en Algérie (Bakchiche et Gherib, 2014), et autre région du Maroc (Rsaini et al., 2013; Khouchlaa et al., 2017). L'étude de (Biglari et al., 2008) sur huit variétés de dattes montre des variations de la teneur en flavonoïdes allant de $1,62\%$ à $81,7\%$ qui sont presque similaires à nos résultats sur les teneurs en flavonoïdes pour *Phoenix dactylifera L.*

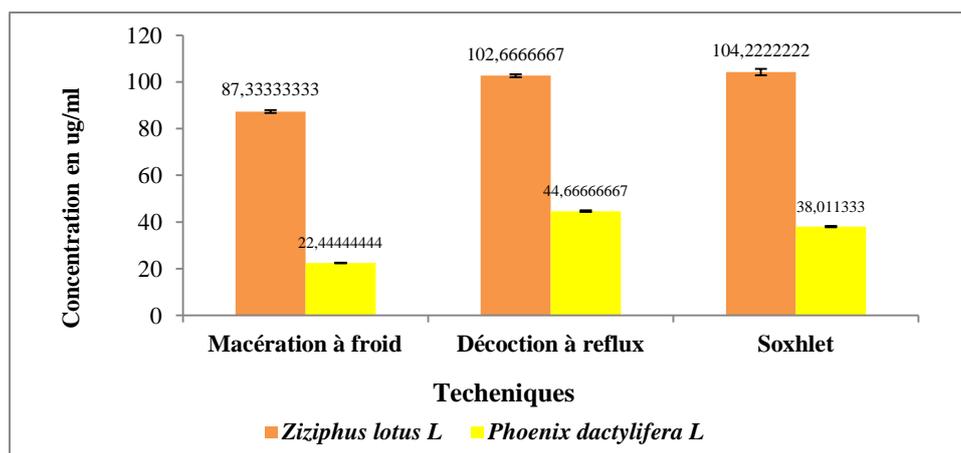


Figure 22 : Concentration des flavonoïdes dans les deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Zizyphus lotus L.*

2.3. Dosage des tannins condensés

Les résultats de dosage des tanins condensés présentés dans la figure 24 ont montré que les teneurs en ce métabolite secondaire dans les deux fruits *Phoenix dactylifera* L. et *Zizyphus lotus* L. sont plus élevées lorsqu'on utilise la technique de décoction à reflux qui donne 0,18 mg/ml pour *Zizyphus lotus* L. et 0,17 mg/ml pour *Phoenix dactylifera* L. par la technique de macération est celle qui donne des concentrations plus faibles : 0,05% pour *Zizyphus lotus* L. et 0,019% pour *Phoenix dactylifera* L. Une étude établie par Bessas en 2007 signale que les teneurs en tanins pour les dattes sont respectivement de l'ordre de 55,39% et 219% qui sont différents à nos résultats sur les teneurs sur les dattes. À l'égard des résultats obtenus, la présence des tanins dans les fruits du *Zizyphus lotus* L. est évidente, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par (Borgi et al., 2007)

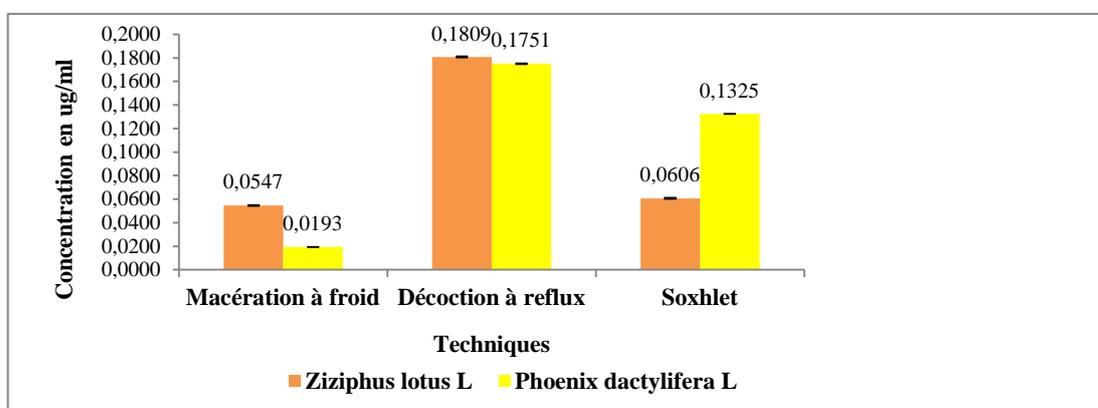


Figure 23 : Teneurs en tanins condensés des deux fruits *Phoenix dactylifera* L. et *Zizyphus lotus* L.

III. Caractérisations physicochimiques des extraits

1. Détermination du PH

Le pH est l'un des paramètres déterminant l'aptitude à la conservation des aliments. On peut dire qu'il est parmi les principaux obstacles que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération (GIDDEY, 1982; GATEL, 1982).

La valeur du pH peut varier selon l'état physiologique du fruit, les conditions climatiques, de stockage voire les pratiques culturales. (Meligi et Sourial 1982 ; Mohammed et al., 1983) ont fixé des normes à propos du pH :

- pH acide <5,4 : mauvais caractère
- compris entre 5,4 et 5,8 : acceptable
- supérieur >5,8 : bon caractère

L'évaluation que nous avons fait sur ces deux fruits indique que leur pH est compris entre 2,03 et 2,24 pour *Phoenix dactylifera* L., ce qui concerne *Zizyphus lotus* L. le pH varie entre 2,44 et 2,81. Selon la classification de Meligi et Sourial (1982), nos variétés sont de mauvais caractère du point de

vue pH. Si on compare ces résultats avec d'autres études, on trouve que les autres rentrent dans la fourchette des valeurs établie par (JASSIM et al, 2005) et qui a trouvé une valeur de (6,68) pour les dattes, ce qui est différent de notre valeur qui est 2,24 pour le même fruit.

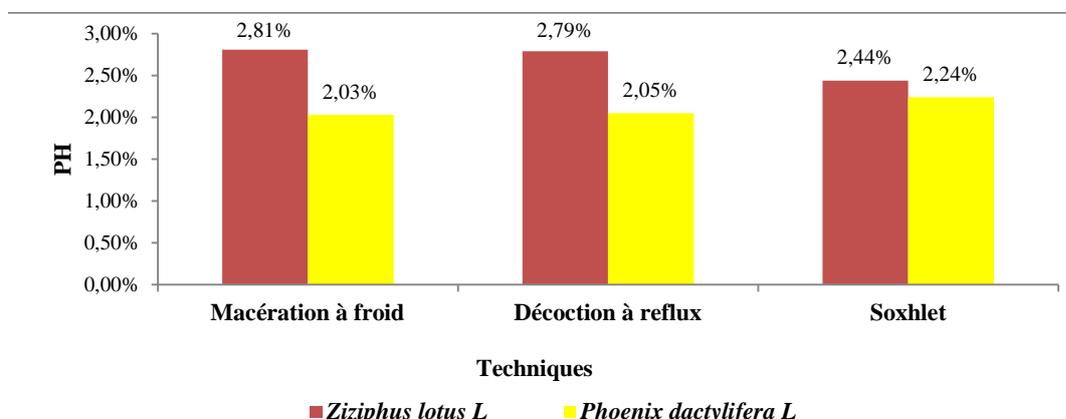


Figure 24: Teneurs en PH pour les deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Zizyphus lotus L.*

2. Teneur en eau

La teneur en eau en pulpe varie en fonction des variétés. Le graphe suivant montre les résultats obtenus après la dessiccation (figure 26).

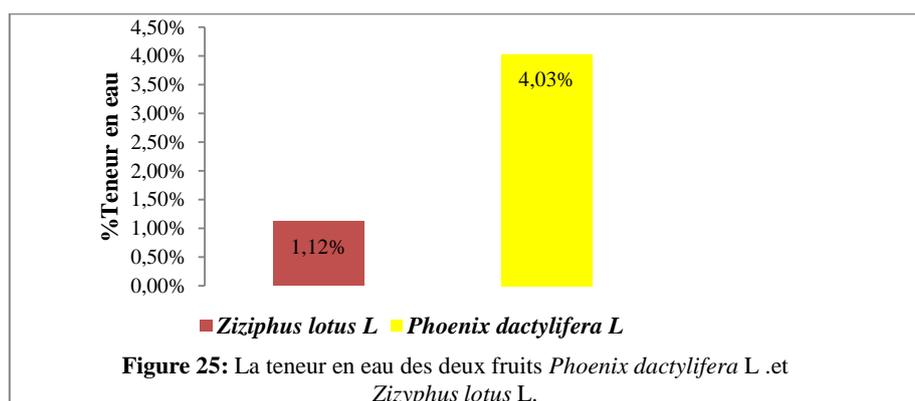


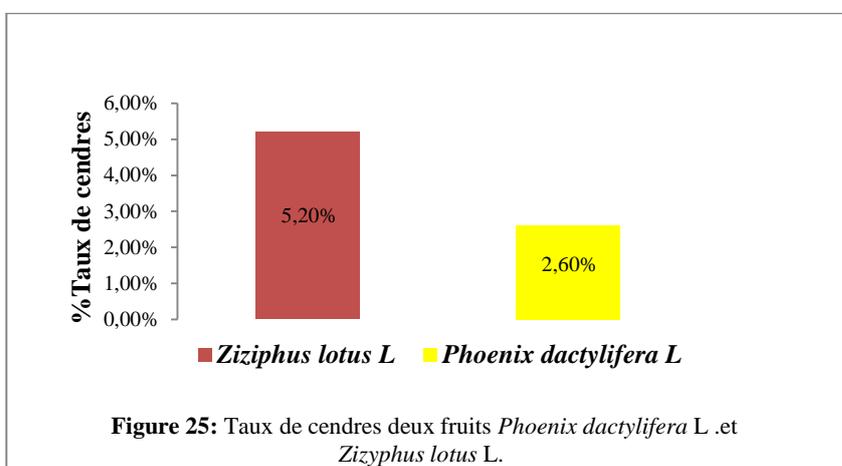
Figure 25: La teneur en eau des deux fruits *Phoenix dactylifera L.* et *Zizyphus lotus L.*

Les résultats de la figure montre que la teneur en eau pour *Phoenix dactylifera L.* est environ 4,03%. Tandis que le pourcentage de l'eau de fruit de *Zizyphus lotus L.* égal à 1,12% donc la conservation de ce fruit pourrait être sans aucune altération pendant une longue durée. Comparativement aux valeurs trouvées chez d'autres variétés du même genre d'occurrence, le *Zizyphus mauritiana* (Grosskinsky, 1999), *Zizyphus spina christi* (Anthony, 2005), dont la teneur en eau est comprise entre 46 à 85%, la valeur que nous avons obtenue pour *Zizyphus lotus* est nettement faible 1,12%. Ceci pourrait être expliquer par la différence des conditions climatiques et la répartition géographique. selon Meryem Benramdane (2015) la pulpe de la variété Najda est la plus riche en eau (35,098±1,69) contrairement à la variété Khalas qui a la valeur la plus petite (19,88±0,68) entre ces

deux variétés se place la variété « Kraft » avec des valeurs moyennes en termes d'humidité relative de la pulpe ($28,302 \pm 0,98$).

1. Cendres totales

D'après la figure 27 les moyennes des teneurs en cendres de ces deux fruits montrent que le fruit de *Zizyphus lotus* L. a une teneur moyenne presque élevée (5,2%) , suivi par celle du *Phoenix dactylifera* L. avec une teneur en cendre presque faible (2%). Selon Murdock (2002), la teneur en éléments minéraux de *Zizyphus lotus* L. est (0,82% de matière sèche), qui est une valeur inférieure à celle de notre échantillon (5,2%). Autre recherche réalisé par Açouren en 2001, a signalé que la datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium leur taux de cendres sont compris entre 1.10 et 3.69% du poids sec.



CONCLUSION GENERALE

L'étude des propriétés des extraits de la pulpe du *Zizyphus lotus* L. et de *Phoenix*

dactylifera L. nous a permis d'obtenir des résultats intéressants. En effet, les trois techniques d'extraction (décoction à reflux, macération à froid et soxhlet) ont montré un contraste des résultats vis-à-vis les deux fruits étudiés. L'analyse des résultats obtenus montre que le rendement des extraits de deux fruits *Zizyphus lotus* L. et *Phoenix dactylifera* L. varie en fonction de la technique utilisée, ainsi la technique de décoction à reflux présente le rendement le plus élevé que celle de macération à froid et soxhlet . Ces résultats sont encourageants et montrent que la décoction à reflux a révélé une présence de métabolites primaires et secondaires plus importante par rapport à la macération et soxhlet. La caractérisation physicochimique signifie que tous les extraits de *Zizyphus lotus* L. et de *Phoenix dactylifera* L. ont un pH acide ,concernant la teneur en eau pour les deux fruits est nettement faible, à propos de la teneur en cendre de *Zizyphus lotus* L.est plus intéressante, contrairement pour *Phoenix dactylifera* L. qui est pauvre en éléments minéraux .