Nutr. Santé, 2023, Vol.12, N°01:38-47. DOI:10.30952/ns.12.1.5

Composés bioactifs

Valorisation et effet biologique de l'huile végétale des graines de *Ziziphus jujuba* Mill.

Valorization and biological effect of *Zizuphus jujuba* Mill. vegetable oil

Razika LAOUFI.[1], Khaled BOUDJEMA.[2], Samia LEFKIR.[2], Narimen BENHABYLES.[3], Ouahiba BOUCHENAK. [3], Karima YAHIAOUI.[2]

[1]Laboratoire de Technologies Douces, Valorisation, Physico-Chimie des Matériaux Biologiques et Biodiversité, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie. [2]Laboratoire Technologie Alimentaire, Faculté de Technologie, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.[3]Laboratoire Bio-informatique, Microbiologie Appliquée et Biomolécules, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

Corresponding author: r.laoufi@univ-boumerdes.dz

Reçu le 26 novembre 2022, Révisé le 29 avril 2023, Accepté le 29 mai 2023

Résumé *Introduction*. Les ressources naturelles végétales sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisés dans divers domaines pour la fabrication d'une large variété de produits. ***Objectif*.** Le présent travail a pour but la caractérisation physico-chimique et chromatographique de l'huile végétale des graines de *Ziziphus jujuba* Mill., et l'évaluation de leur activité antioxydante et anti-inflammatoire. ***Matériel et méthodes***. L'huile des graines extraite par soxhlet est caractérisée sur le plan organoleptique et physicochimique. La teneur en acides gras est déterminée par une analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG). L'activité antioxydante est évaluée par le test diphenyl-picryl-hydrazyl (DPPH) et le test de blanchiment. L'activité anti-inflammatoire est déterminée à l'aide du modèle de l'œdème plantaire induit chez la souris par la carragénine. ***Résultats*.** L'huile présente un rendement d'extraction de 3,14%. La caractérisation par la CPG montre la présence de 12 acides gras avec une prédominance de l'acide oléique (47,02%) et l'acide linoléique (37,40%). Les paramètres physico-chimiques ont montré une acidité de 2,05%, un indice de saponification de 198,17mg KOH/mL, un indice de réfraction de 1,471±0,00. L'huile végétale testée exprime une activité anti-radicalaire importante pour le test de DPPH et forte pour celui de β-carotène. L'induction d'œdème chez les souris a montré un effet efficace maximal de l'huile dans l'inhibition de l'œdème à la première heure, par rapport au Diclofénac à la même heure. ***Conclusion*.** Les résultats de cette étude font ressortir la richesse de l'huile des graines de *Ziziphus jujuba* en acides gras dotés d'un effet antioxydant et anti-inflammatoire. Ces propriétés permettent de prévoir son utilisation en biotechnologie et en cosmétologie.

Mots clés : *Anti-inflammatoire, Antioxydant, CPG, Graines, Huile végétale*, *Ziziphus jujuba*

Abstract ***Introduction.*** The natural plant resources are products with high added value, used in various fields for the manufacture of a wide variety of products. ***Objective.*** The purpose of this study was the physicochemical and chromatographic characterization of *Ziziphus jujuba* seeds vegetable oil, and the evaluation of their antioxidant and anti-inflammatory activity. ***Material and methods.*** Seeds oil extraction was done by soxhlet. Fatty acid content was determined by gas chromatography (GPC). Organoleptic and physicochemical characteristics were determined, and antioxidant activity was evaluated by diphenyl-picryl-hydrazyl (DPPH) test and β-carotene bleaching. Anti-inflammatory activity was essayed using carrageenan-induced plantar edema model in mice. ***Results.*** Extracted seeds oil had an extraction yield of 3.4%. GPC characterization showed the presence of 12 fatty acids with a predominance of oleic acid (47.02%), and linoleic acid (37.40%). Physicochemical parameters of *Ziziphus jujuba* seeds oil showed an acidity of 2.05%, a saponification value of 198.17 mg KOH/mL, and refractive index of 1.471±0.00. This oil expressed a significant antiradical activity for the DPPH test, and low for that of β-carotene. *In vivo* study of edema induction in mice showed that oil had a maximum effective effect in inhibiting oedema (55.89±0.03%), at the first hour, compared to Diclofenac (19.88±0.12%), at the same hour. ***Conclusion.*** These results highlight the fatty acids richness of *Ziziphus jujuba* seeds oil with antioxidant and anti-inflammatory effects. These properties make it possible to predict its use in biotechnology and cosmetology.

Key words: *Anti-inflammatory, Antioxidant, GPC characterization, Seeds, Vegetable oil, Ziziphus jujuba*

Introduction

La valorisation des plantes passe essentiellement par l'extraction de leurs molécules bioactives. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans divers domaines pour la fabrication d'une large variété de produits. L'utilisation d'huile végétale dans l'industrie est déterminée par sa composition en acides gras, cette dernière varie selon l'origine végétale, les facteurs génétiques et les conditions climatiques [1]. Parmi les plantes cosmético-médicinales les plus populaires, l'huile d'olive (*Olea europea* L.) et l'huile d'argan (*Argania spinosa* L.) sont très utilisées. D'autres espèces renferment aussi des huiles intéressantes, mais en quantité plus faible, comme la figue de barbarie et le pistachier. En Chine, la graine de *Ziziphus jujuba* est prescrite dans l'insomnie, les sueurs nocturnes et le fruit dans la diarrhée, l'anorexie, l'irritabilité et les palpitations [2]. Le fruit de *Ziziphus jujuba* contient divers composés bioactifs, y compris les acides triterpéniques, les acides phénoliques et les saponines, exerçant des effets antioxydants, antiflammatoires, hépato-protecteurs, anti-obésité, antidiabétiques, antimicrobiens, anticancéreux et gastro-intestinaux [3]. Huang & Williams [4] estiment que la fraction alcaloïdique de la graine et du fruit sont responsables de l'effet sédatif, alors que les alcaloïdes extraits de l'écorce de l'arbre sont inefficaces. Les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches et une nouvelle approche s'est orientée vers l'exploitation des métabolites secondaires dans la santé et dans l'industrie agro-alimentaire [5].

Les anti-inflammatoires sont connus pour leurs effets secondaires, or, dans la médecine traditionnelle, les produits naturels ayant une bonne efficacité et un faible risque d'effets secondaires offriraient la possibilité d'établir un traitement dit de "médecine douce". Parmi ces composés, on retrouve *Ziziphus jujuba* [6]. Peu de travaux sur l'activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de *Ziziphus jujuba* et sur son activité anti-oxydante.

Dans le cadre de la valorisation des propriétés des plantes médicinales de la flore algérienne, et l'importance des huiles végétales dans l'utilisation traditionnelle, nous avons entrepris une étude sur l'huile végétale des graines de *Ziziphus jujuba* appartenant à la famille des Rhamnacées, connue en Algérie sous le

nom d'annabe, afin d'évaluer leur activité anti-antioxydante et anti-inflammatoire.

Matériel et méthodes

Matériel animal

Des souris *Swiss albinos*, femelles, dont le poids varie entre 20 et 32 g, ont été utilisées lors de l'étude *in vivo.* Elles ont été élevées à l'animalerie de l'Institut Pasteur d'Algérie (Centre d'élevage, Kouba, Alger), à une température moyenne de 28±3°C et une humidité relative de 70%. Les animaux ont reçu la nourriture et l'eau à volonté. La manipulation des animaux s'est faite conformément aux critères énoncés dans le "Guide pour le soin et l'utilisation des Animaux" préparé par l'Académie Nationale des Sciences et publié par l'Institut National de la Santé.

Matériel végétal

Les graines de *Ziziphus jujuba* proviennent de fruits matures récoltés en octobre 2018 au niveau de la région de Boudouaou, Wilaya de Boumerdès. Elles sont séparées des fruits et séchées à l'air libre pendant 5 jours puis broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, homogène. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des boites stériles à 4°C.

Méthode d'extraction

Le protocole d'extraction suivi est la méthode normalisée décrite par AFNOR [7]. Pour cela, 20g de poudre ont été soumis à une extraction par l'hexane (150 mL) distillant entre 40 et 60°C dans un soxhlet. Le temps d'extraction total est de 4h. Après évaporation du solvant sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40-60°C, le résidu obtenu, sous forme d'un extrait huileux, représente généralement la matière grasse.

Le rendement en huile est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile obtenue et la masse de la matière végétale sèche. La teneur en huile est exprimée en pourcentage de matière sèche des graines selon la formule suivante :

$$\text{Rendement } \% = \frac{\text{m1}}{\text{m2}} \text{x } 100$$

m1 : Masse de la matière grasse extraite (g). m2 = Masse de la prise d'essai (g)

Détermination des caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile des graines de *Ziziphus jujuba* ont porté sur l'étude de l'aspect solide ou liquide, de la couleur et de l'odeur [8]. La connaissance des propriétés physico-chimiques est un critère de qualité très recherché par les utilisateurs. Les paramètres recherchés sont l'acidité, l'indice de saponification et de réfraction.

Acidité

L'acidité est le pourcentage d'acide gras libre dans la matière grasse (huile), elle est exprimée en % d'acide oléique et elle est déterminée par titration directe de l'huile dans l'éthanol avec une solution d'hydroxyde de potassium. Un échantillon d'huile de 0,4g est ajouté à 40mL d'éthanol (96%), 40mL de cyclohexane, par la suite ce mélange est titré par une solution de potasse alcoolique à 0,01M et 2 gouttes de phénolphtaléine (1%). Les acides gras libres sont totalement neutralisés, lorsque la phénolphtaléine vire au rose persistant [7]. L'acidité est donnée par la formule suivante :

Acidité % = (M × N × V) / (p × 10).

M1 et M: Masse molaire de KOH = 56,1 g/mol. M : Masse molaire d'acide oléique = 282g/mol. N : Normalité de KOH à 0.1N.V : volume de KOH nécessaire au titrage. P : Poids de la prise d'essai.

Indice de saponification

L'indice de saponification correspond au nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier les acides gras contenus dans 1g de matière grasse. Un mélange de 2g d'huile et 25 mL de solution KOH dans l'éthanol à 0,5N est porté à ébullition dans un chauffe ballon surmonté d'un réfrigérant à reflux pendant 1 h. Après refroidissement, quelques gouttes phénolphtaléine sont rajoutées au mélange. La solution est titrée avec HCl à 0,5N jusqu'à dispari-tion de la couleur rose. L'indice de saponification est donné par la formule établie ci-dessous :

$$\text{IS} = \frac{((\text{V0} - \text{V}) \times \text{N} \times \text{M})}{\text{P}}$$

V0 : Volume en mL de HCl utilisé pour l'essai à blanc. V : Volume en mL de HCl utilisé pour l'échantillon à analyser. P : Prise d'essai en g. N: Normalité de l'acide chlorhydrique HCl 0.5N.

Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile est mesuré par le réfractomètre, c'est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée faisant circuler de l'air dans l'huile maintenue à température constante. L'indice de réfraction est donné par la formule suivante :

$$n_d^{20} = n_d^T + 0.00035(T - 20)$$

n_d^{20}: Indice de réfraction à 20°C.

n_d^T: Indice de réfraction à la température de l'analyse. T:20°C. 0,00035: Variation de l'indice de réfraction des triglycérides par degré au voisinage de 20°C.

Détermination de la teneur en acides gras par CPG

La teneur en acides gras a été déterminée par une analyse chromatographique des esters méthyliques d'acides gras en phase gazeuse (CPG) selon la norme AFNOR, T60-233 et T60-234. Pour cela, 2mL d'éther de pétrole ou d'hexane et 3mL d'une solution méthanolique de KOH à 2N sont additionnés à 1g d'huile. Après agitation pendant 30 secondes, le mélange est incubé pendant 24h, à température ambiante, jusqu'à ce que la phase supérieure de la solution devienne claire. Cette fraction contient les esters méthyliques des acides gras (E.M.A.G) prête après dilution pour l'injection.

Évaluation de l'activité antioxydante

Test de DPPH

Le test de piégeage du radical libre DPPH est réalisé en adoptant la méthode décrite par Sanchez [9]. Cette étude est basée sur le piégeage du radical libre stable DPPH par une molécule anti-radicalaire, ce qui entraine un changement de couleur [10]. La méthode est rapide et commode à mettre en œuvre. Pour cela, 25µL de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (0,0125 à 1 mg/mL) sont ajoutés à 1,95mL de la solution méthanolique du DPPH (0,0024g/L). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 25µL de méthanol avec 1,95mL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, le butyl Hydroxy Toluene (BHT), dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le test est répété trois fois pour chaque concentration. Les valeurs de l'IC_{50} sont déterminées graphiquement par la régression linéaire. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) selon la formule suivante:

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Abs contrôle : Absorbance moyenne du radical seul.
Abs test : Absorbance du radical libre en présence d'antioxydant après 30 min de contact. I% : pourcentage d'inhi-bition.

Test de blanchiment ou de décoloration du β-carotène

La méthode utilisée est décrite par Babar *et al.,* [11]. Ainsi, une émulsion est préparée, renfermant 0,5mg de β carotène, 1mL chloroforme, 25µL acide linoléique, 200mg Tween 20 et 100mL eau distillée saturée en oxygène. Pour un échantillon ou une concentration donnée, 2,5mL de cette émulsion sont prélevés, puis, 0,5mL de la solution d'échantillon sont ajoutés. Le mélange est incubé pendant 2 h à 50°C dans un bain marie, à l'abri de la lumière. L'absorbance à T_0 est mesurée dès l'ajout de l'émulsion sur l'échantillon à 490 nm, puis l'absorbance est lue à chaque fois avec un intervalle de 20 min. Le blanc utilisé est sans β-carotène. Le pourcentage de l'inhibition est exprimé selon la formule suivante :

$$\%\ I = \frac{AE(120) - AC(120)}{AC(0) - AC(120)}$$

AE(120): Absorbance en présence de l'extrait à 120 min.
AC(120): Absorbance du contrôle à 120 min. AC(0): Absorbance du contrôle à 0 min.

Evaluation de l'effet anti-inflammatoire

La méthode décrite par Winter *et al.,* [12] a été utilisée pour évaluer l'effet anti-inflammatoire. Pour l'application de cette méthode, les animaux sont répartis en trois lots de trois souris chacun, qui sont mis à jeun 12 heures avant l'expérimentation. La première étape consiste à administrer par gavage l'extrait végétal au 1er lot et le Diclofénac au second à raison de 1mL pour 100g de poids corporel, à des concentrations respectives de 200mg/mL et 100mg/mL. En parallèle, le 3ème lot, considéré comme témoin négatif, est traité par l'eau physiologique. L'administration orale du produit est réalisée à l'aide d'une sonde bucco-œsophagienne. Une heure après le gavage, 0,05mL de solution de carragénine à 1% (à raison de 1mL pour 100g) est injectée à chaque souris, sous le coussinet de la patte arrière droite afin de provoquer une réaction inflammatoire. L'évolution de l'œdème est déterminée chaque 60 min durant 6h après l'injection. Pour mesurer l'activité anti-inflammatoire, le diamètre de la circonférence de la patte au niveau métatarsien (lacet) est déterminé à l'aide d'un pied à coulisse à affichage électronique (Holex). Le calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème est donné par la formule suivante [13] :

$$\text{Pourcentage (\%)d'inhibition} = \frac{C - C1}{C} \times 100$$

C : % d'augmentation moyenne de la circonférence de la patte œdématiée du groupe témoin (lot en un temps donné). C1 : % d'augmentation moyenne de la circonférence de la patte œdématiée du groupe test au même moment.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica 6. La comparaison des moyennes des mesures entre les différents lots a été faite à l'aide du test t de Student (p< 0,05).

Résultats

Rendement de l'extraction

L'huile isolée à partir des graines est de couleur jaune pâle, avec une consistance liquide peu visqueuse à température ambiante, avec une bonne odeur rafraichissante. Le rendement de l'extrait huileux des graines de *Ziziphus jujuba* obtenu par Soxhlet a été estimé à 3,14%.

Paramètres physicochimiques de l'huile de *Ziziphus jujuba*

Les résultats de la détermination des différents paramètres physico-chimiques sont présentés dans le **Tableau I**.

Tableau I. Paramètres physico-chimiques de l'huile *de Ziziphus jujuba*

	Huile graines *Zj*	Normes (Codex STAN 210-1999)
% Acidité	2 ,59	≤ 0,3
Indice de saponification (mgKOH/g huile)	192 ,175	184-198
Indice de réfraction	1,470	1,467-1,470

Zj : *Ziziphus jujuba*

La valeur d'acidité de l'huile *de Ziziphus jujuba* obtenue est de 2,59%, donc non conforme aux normes CODEX STAN 210-1999.

La détermination de l'indice de saponification a donné une valeur de 192,175mg KOH/g**,** ce qui montre que notre huile contient des acides gras de courtes chaines hydrocarbonées.

La valeur de l'indice de réfraction obtenue est de 1,470 et elle est conforme aux normes CODEX STAN 33-1981 (1,467-1,470) (**Tableau I)**.

Détermination de la composition en acides gras

Les résultats des analyses réalisées par CPG sont représentés dans le **Tableau II**. Une séparation efficace des 12 acides gras est observée. L'ordre d'apparition est croissant en fonction de l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée de C16 à C22. Le profil des acides gras, présenté sur le **Tableau II**, montre que l'huile du jujubier est fortement insaturée, où les deux acides gras majoritaires sont l'acide oléique (47,02%) et l'acide linoléique (37,40 %). En général, il y a une prédominance nette des acides gras insaturés (84,42%) par rapport aux acides gras saturés (15,58%). D'autres acides sont présents mais à de faibles proportions, tel que l'acide palmitique (5,71%), l'acide gondoique (3,46%), l'acide stéarique (2,92%), l'acide béhénique (1,39%), l'acide linolénique (0,77%) et l'acide palmitoleique (0,46%). Cependant, d'autres acides existent à l'état de trace, tel que l'acide margarique.

Tableau II. Composition en acides gras de l'huile de graines de jujubier

Acide gras	Dénomination	%
C18 :1ω9	Acide oléique**	47,02
C18 :2ω6	Acide linoléique***	37,40
C16 :0	Acide palmitique*	5,71
C20 :1ω9	Acide gondoique	3,46
C18 :0	Acide stéarique*	2,92
C20 :0	Acide béhénique*	1,39
C18 :3ω3	Acide linolénique ***	0,77
C16 :1ω7	Acide palmitoleique**	0,46
C17 :0	Acide margarique*	0,07

** Acide gras saturé. ** Acide gras mono-insaturé. *** Acide gras polyinsaturé.*

Evaluation de l'activité antioxydante

Test de DPPH

La cinétique de décoloration de ce radical est suivie à 517 nm, tout en utilisant le BHT comme standard. Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'huile des graines de *Ziziphus jujuba* sont illustrés dans la **Fig. 1.**

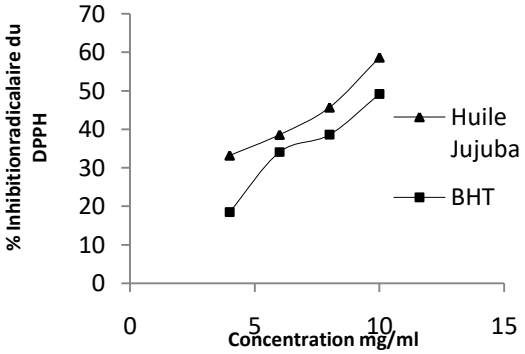

Fig.1. **Pouvoir antiradicalaire de l'huile de *Ziziphus jujuba***
BHT : Butyl Hydroxy Toluene.

Le profil de l'activité antiradicalaire obtenu révèle que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait est supérieur au BHT. Pour toutes les concentrations de 10, 8, 6 et 4 mg/mL, les extraits présentent des % d'inhibition de l'ordre de 58,78±1,09%, 45,65±0,02%, 38,61±0,04% et 33,12±0,13%, respectivement. Les résultats montrent bien un effet supérieur à celui noté pour le BHT.

Test de blanchiment du β-carotène

Le test de blanchiment du β-carotène couplé à l'autooxydation de l'acide linoléique est une méthode

rapide, basée principalement sur l'oxydation de l'acide linoléique, acide gras insaturé, en contact avec les espèces réactives de l'oxygène (ROS), produits par l'eau oxygénée. Le produit formé lancera l'oxydation du β-carotène, ce qui conduira à la décoloration. Les antioxydants diminuent le degré de décoloration. (**Fig. 2**).

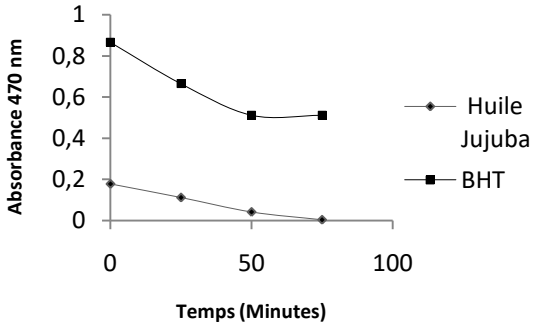

Fig. 2. Cinétique de blanchiment du β-carotène à 470 nm en présence de l'extrait d'huile et du BHT
BHT: Butyl Hydroxy Toluene.

La **Fig. 2.** représente l'absorbance de la décoloration du β-carotène au cours du temps (chaque 25 min). Il est à remarquer que la DO diminue avec le temps. En effet, à T_0 l'absorbance relevée est de 0,866 pour le BHT et 0,178 pour l'huile des graines. A T_{50min}, la valeur révélée est de 0,665 pour le BHT et 0,112 pour l'huile des graines. Enfin, à T_{120min}, l'absorbance diminue encore, atteignant 0,512 pour le BTH et 0,0042 pour l'huile des graines. Cette diminution de l'absorbance révèle la présence d'une dégradation des doubles liaisons du β-carotène par les radicaux libres.

Ativité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de *Ziziphus jujuba* a été évaluée par la méthode de carragénine, induisant un œdème de la patte, chez les souris. Le diamètre de la patte, mesuré par le pied à coulisse, a donné les résultats illustrés dans la **Fig. 3**, montrant une différence de diamètre moyen de l'œdème (patte gauche-patte droite) induit par la carragénine en fonction du temps.

L'injection de la carragénine au niveau de la patte gauche (PG) des souris, ayant reçu uniquement de l'eau physiologique, entraîne un œdème juste après. Le diamètre moyen de la patte des souris est de 0,05±0,007cm, 0,04cm, 0,015cm, 0cm, respectivement à 1h, 2h, 3h et 4h après l'injection.

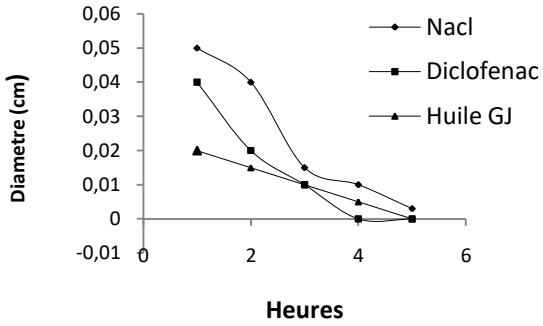

Fig. 3. Diamètre (cm) moyen de l'œdème (PG-PD)
Huile GJ: Huile des graines de jujuba ; PG: Patte gauche ; PD: Patte droite

Ces valeurs correspondent à des pourcentages moyens d'augmentation respectifs de 24,25±0,02%, de 20,77± 13,54%, de 10,66±0,03 % et de 5,37±0,03% (**Fig. 4**). En présence de Diclofénac® et de l'huile de *Zizyphus jujuba*, le diamètre est plus faible, il est compris entre 0,04–0 cm et 0,2–0 cm, respectivement à 1h, 2h, 3h et 4 h. Le maximum est observé après 1 heure, soit 10,54±0,07cm pour l'extrait et 20,46±0,05 cm pour Diclofénac®.

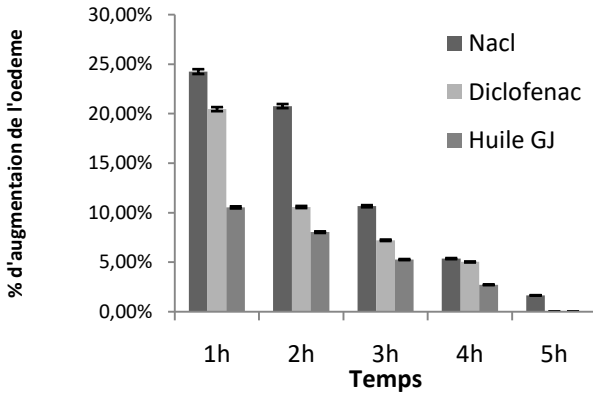

Fig. 4. Pourcentage d'augmentation de l'œdème
Les valeurs sont présentées en moyenne ± Erreur Standard .
Test de Student: groupes comparés au groupe témoin.
Diclofénac = *référence, NaCl = Témoin, Huile des graines = Essai.*

Afin de mettre en évidence l'effet anti-inflammatoire de notre extrait, les pourcentages d'inhibition de l'œdème ont été calculés en fonction du temps (heures), les résultats sont reportés dans la **Fig. 5**.

A la 1ère et la 2ème heure, l'huile des graines de *Zizyphus jujuba* a inhibé, de manière significative, le développement de l'œdème induit par la carragénine (p<0,003), au niveau de la patte des souris, avec une réduction maximale à la 1ère heure (55,89±0,034 %) par rapport au Diclofénac® (19,88±0,122 %).

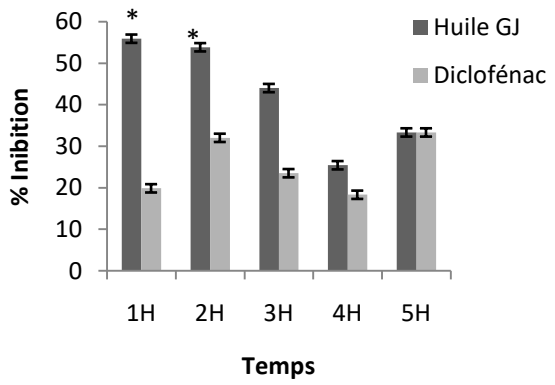

Fig. 5. Pourcentage d'inhibition de l'œdème au cours du temps

*Les valeurs sont présentées en moyenne ± Erreur Standard . Test de Student: *p<0,05: groupes comparés au groupe témoin.* Diclofénac = *Référence, NaCl = Témoin, Huile* des graines de *Zizyphus jujuba* = Essai.

Discussion

Le but de cette étude était la caractérisation physico-chimique et chromatographique de l'huile végétale des graines de *Ziziphus jujuba* Mill. et l'évaluation de leur activité anti-oxydante et anti-inflammatoire.

La teneur en huile des graines de Jujubier constitue un critère important permettant de réaliser une sélection variétale. Les résultats obtenus dans cette étude ne sont pas conformes aux données de Aloui *et al.,* [14] qui ont travaillé sur les graines de *Ziziphus jujuba* récoltées de quatre régions en Tunisie. En effet, leurs résultats sont supérieurs, soit 37,54% à Mahers, 20,58% à Mahdia, 35% à Sfax et 25% à Choutrana. Cette différence quantitative peut être due à divers facteurs, en particulier, la région géographique, le facteur génotypique et les conditions pédoclimatiques ainsi que les méthodes d'analyse et de quantification.

Les huiles occupent une place considérable sur le marché de la parapharmacie, de l'industrie cosmétique ainsi que dans de nombreux secteurs de l'industrie agroalimentaire. Pour le contrôle de leur qualité, il est important de déterminer des constantes physiques (réfraction) et des constantes chimiques (indices d'acidité et de saponification)**.**

L'acidité est la quantité d'acides gras libres résultant des réactions hydrolytiques des triglycérides. C'est un critère de qualité permettant de rendre compte de l'état de conservation d'une huile [15]. La valeur obtenue pour notre huile est de 2,50%. Ce résultat semble être légèrement inférieur à celui trouvé par Abdeddaim *et al.,* [16] sur une autre espèce de jujubier (*Ziziphus lotus*), soit un taux d'acidité de 2,82%. Il est à signaler que des valeurs d'acidité supérieures sont notées par Maamei *et al.,* [17] (8,5%) et Djerrou *et al.,* [18] (7%) pour les huiles des graines de lentisque des régions d'El Milia (Nord d'Algérie) et de Skikda (Est d'Algérie), respectivement. Cependant, notre valeur est légèrement supérieure à celle trouvée par Boukeloua *et al.,* [19] (2,27%) pour l'huile de lentisque originaire de Skikda et par Zaanoun *et al.,* [20] (0,3%) pour l'huile d'argan, et celle notée par Charrouf *et al.,* [21] (0,86%). Une huile de bonne qualité doit présenter une acidité faible ou nulle. Notre résultat n'est pas dans l'intervalle des caractéristiques de la qualité des huiles végétales fixées par le ''CODEXSTAN 210-1999'' qui est au maximum de 0,3% pour les huiles raffinées, et par le ''Centre algérien de contrôle de la qualité et emballage'' qui est au maximum de 1% pour l'huile d'olive. La valeur d'acidité élevée de notre échantillon est probablement l'indication d'une hydrolyse enzymatique forte des graines pendant la moisson, la manipulation ou le traitement d'huile [22]. Cette forte acidité pourrait s'expliquer également par une mauvaise conservation de celle-ci. Selon Song *et al.,* [15], lorsqu'une huile n'est pas soumise à de bonnes conditions de conservation, sa qualité peut se détériorer de diverses manières, mais le plus souvent par hydrolyse ou par oxydation. Dans ce cas, elle devient impropre à la consommation.

L'indice de saponification informe sur la longueur de la chaine carbonée des acides gras qui constituent les triglycérides, il est d'autant plus élevé que la chaine des acides gras est courte [23]. L'étude de Abdedaim *et al.,* [16] sur *Ziziphus lotus* a montré que le taux de saponification pour l'huile des graines était de 195,30mg KOH/g et celle de la pulpe de 154,83mg KOH/g. L'indice de saponification de notre échantillon correspond aux limites fixées par le ''codex STAN 210-1999'' pour les huiles raffinées (187–195 mg KOH/g MG) et le ''Centre algérien de contrôle de la qualité et emballage'' pour l'huile d'olive (184–196 mg KOH/g MG).

L'indice de réfraction est particulièrement utile car il renseigne sur l'état de dégradation d'une huile. Donc, un indice de réfraction élevé permet de conclure à la présence de doubles liaisons. En effet, la présence d'acides gras libres diminue fortement l'indice de réfraction [24]**.** Ces valeurs ne sont pas en accord avec celles rapportées par Abdeddaim *et al.,* [16] concernant l'huile de graines et de la pulpe qui sont respectivement de 1,469 et 1,463.

Les analyses réalisées par CPG permettent de distinguer la composition en acides gras du jujubier. Le résultat obtenu rejoint celui décrit par Aloui *et al.,*

[14] qui ont montré la dominance des acides oléique (oméga–9) et linoléique (oméga–6) dont les taux dépassent les 40%, pour les quatre régions. L'acide oléique (C18 :1) est majoritaire au niveau des graines récoltées de la région de Mahdia et la région de Sfax, avec un pourcentage de 46,60%, son taux diminue légèrement pour atteindre les proportions de 43,55 % et 45,47% pour la région de Choutrana et Mahres, respectivement. Ces auteurs notent également la présence des autres acides gras à faible concentration, comme l'acide palmitique (C16 :0) qui varie de 4,53% (région Mahres) à 4,84% (région Mahdia). Ces résultats indiquent que l'huile de jujubier peut être considérée comme étant une huile riche en acide oléique.

Une autre étude réalisée en Chine sur *Zizyphus jujuba* Mill. [25] a montré que la teneur en acide gras de l'huile de ces graines varie considérablement selon la région géographique, la température, l'âge de la plante, le procédé de séchage, la méthode et le solvant d'extraction de l'huile. La composition de l'huile du jujubier ressemble à celle des autres huiles très utilisées en cosmétique, comme l'huile d'argan, l'huile d'amande douce et l'huile d'olive. La richesse de ces huiles en acides oléique et linoléique, justifie leur utilisation dans les soins de la peau contre le dessèchement et le vieillissement physiologique [26].

Les acides gras insaturés de l'huile du jujubier ont des propriétés nutritives, hydratantes et adoucissantes sur la peau. L'acide oléique est peu employé compte tenu de sa sensibilité à l'oxydation et de son pouvoir comédogène. Il est important de l'incorporer dans des émulsions pour la peau [27]. Cette caractéristique concernant la présence d'acide linoléique, acide gras essentiel faisant partie de la série Omega-6, pourrait être un bon atout pour son exploitation dans le domaine de la cosmétique et agroalimentaire. D'autant plus, la graine est, généralement, un sous produit du jujubier non exploité, puisqu'elle est jetée après la consommation de la chair. Il reste cependant à mettre au point une technologie efficace de décorticage des graines, vu leur dureté, ainsi qu'un bon processus d'extraction d'huile à grande échelle.

L'analyse des résultats du test de DPPH montre que l'IC_{50} de l'huile est toujours supérieure à celle de BHT, l'extrait est plus actif que le BHT. Les résultats obtenus par Charef *et al.,* [28] montrent que l'huile du fruit rouge de *P. lentiscus* ainsi que celle du fruit noir présentent un effet scavenger très important par rapport à notre échantillon vis-à-vis du radical DPPH. En effet, les IC_{50} rapportées par ces auteurs sont de 11,68 et 1,07 mg/mL pour les huiles des fruits noir et rouge, respectivement. Plusieurs facteurs influencent le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment, les conditions de la réaction (temps, concentration et structure).

Le pouvoir anti-perroxydation lipidique de l'huile a été évalué par la méthode de blanchiment du β-carotène. Une des réactions les plus importantes de la peroxydation lipidique est l'auto-oxydation des acides gras insaturés, incriminée dans de nombreuses atteintes cellulaires [29]. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par le test de DPPH, ce qui est probablement dû aux types de tests utilisés et au mécanisme des réactions mises en jeux**.** Dans le test d'acide linoléique/β-carotène, les taux d'inhibition par l'huile sont comparables aux données rapportées par Gusakova *et al.,* [30] de la même plante cultivée au Pakistan (33,87 à 52,11%). Cependant, peu de données existent sur l'activité antioxydante de l'huile, laquelle dépend, non seulement, de la concentration, mais aussi de la structure de ses molécules, des stades de maturité du fruit, où même des conditions de stockage post-récoltes [5-15].

L'injection de carragénine, à l'origine d'une réaction inflammatoire vasculoexudative, au niveau des pattes des souris,s'est traduite par une rougeur et, surtout, par un oedème, dont l'effet maximal est observé au bout de 2 heures. A la 1ère et la 2ème heure, l'huile des graines de *Zizyphus jujuba* a inhibé, de manière significative (p<0,003 et p<0,02), le développement de l'œdème, avec une réduction maximale à la 1ère heure par rapport au Diclofénac®. Cependant, à la 3ème et 4ème heure, aucune différence significative n'est observée entre l'extrait et le standard, mais l'effet anti-inflammatoire de l'huile de *Zizyphus jujuba* reste toujours supérieur à celui du Diclofénac®. Ce résultat est conforme à celui d'El Hachimi *et al.,* [26], qui ont analysé l'activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de *Zizyphus lotus* (L.), en utilisant l'indométacine comme standard. Ces auteurs ont montré un effet inhibiteur maximum de l'inflammation de l'huile de *Zizyphus lotus* par rapport à l'indométacine au bout de 3 h à une concentration de 300 mg/kg. Les effets de l'huile de *Zizyphus jujuba* se manifestent avec le même effet anti-inflammatoire engendré par Diclofénac®, dès la 1ère heure de l'expérimentation. Il peut être conclu que l'huile des graines de *Zizyphus jujuba* contiendrait des composés anti-sérotoniques et anti-histaminiques, ainsi que des inhibiteurs des prostaglandines, comme le Diclofé-nac®, substance de référence dans notre test. Aussi, l'efficacité importante de l'huile de *Zizyphus jujuba* pourrait être liée à son profil chimique, riche en molécules biologiquement actives, tels que les stérols [3-31], les acides

oléique et linoléique. Ces molécules peuvent jouer un rôle déterminant pour cette activité biologique.

Conclusion

L'huile végétale des graines de *Zizyphus jujuba,* caractérisée par CPG, présente un profil de 12 acides gras. Les composants majoritaires sont l'acide oléique qui leur confère les mêmes propriétés que celles de l'huile d'olive, et l'acide linoléique comme l'huile de tournesol et de carthame. Ce type de profil rend possible l'intégration de l'huile végétale des graines de *Zizyphus jujuba* en industrie alimentaire, en lipochimie, notamment, en savonnerie, en industrie des tensioactifs, en industrie des lubrifiants industriels, en cosmétologie et en pharmaceutique. Toutefois, des études pharmacologiques doivent être réalisées pour établir le mécanisme d'action de l'huile de cette graine et identifier les principes actifs responsables de l'effet anti-inflammatoire.

Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts à déclarer.

Références

1. Trabelsi H., Cherif OA., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud J., Barouh N., et al. Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of Pistacia lentiscus L. growing wild in Tunisia. *Food Chem* 2012; 131(2): 434-40.
2. Djeuzong E., Kandeda AK., Djiogue S., Stéphanie L., Nguedia D., Ngueguim F., Dimo, T. Antiamnesic and neuroprotective effect of an aqueus extract of *Ziuphus jujuba Mill*. (Ramnaceae) on scoplamine-induced cognitive impairments in rat. *Evid-Based Compl Altern Med* 2021;2021: 5577163.
3. Aafi E., Ardakani MRS., Ardakani MM. Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. Rhamnaceae): a review on its pharmacological properties and phytochemistry.*Tradit Med Res* 2022;7(4): 38.
4. Huang KC., Williams WM. The Pharmacology of Chinese Herbs: Second Ed. CRC Press, Taylor and Francis group 1998; 544p.
5. Belyagoubi N. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. http://dspace.univtlemcen.dz/handle/112/2012.
6. Goyal R., Sharma PL., Sing M. Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory of *Ziziphus jujuba* in rat. *J Nat Med* 2011; *65*(3-4), 514-8.
7. AFNOR. Recueil des normes françaises. Graine oléagineuse, produits dérivés, Paris; 1981,438p.
8. COI. Norme commerciale applicable aux huiles d'olives et aux huiles de grignons d'olives. Conseil Oléicole International.https://www.internationaloliveoil.org/wpcontent/uploads/2019/12/trade-standard-REV-14-FR.
9. Sánchez-Moreno C., Larrauri JA., Saura-Calixto FA procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric* 1998; 76(2): 270-6.
10. Molyneux P. Theuse of free radical diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity songklanakarin. *J Sci Tech* 2004;26(2): 211-9.
11. Babar Ali M., Hahn EJ., Paek KY. Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules* 2007;12(3): 607-21.
12. Winter CA., Risley EA., Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceeding Soc Experim Biol Med* 1962; 111(3): 544-7.
13. Nongonierma R., NdiayeA., Ndiaye M., Faye B. Activité anti-inflammatoire des décoctés aqueux et alcoolique des feuilles de *Boscia senegalensis* (Pers) Lam. ex. Poir. Capparridaceae. *Med Afr Noire 2006*;53(10): 557-63.
14. El Aloui M., Mguis K., Laamouri A., Albouchi A., Cerny M., Mathieu C., et al. Fatty acid and sterol oil composition of fourTunisianecotypes of Ziziphus zizyphus (L.) H. Karst, *Acta Bot Gall* 2012; 159(1): 25-31.
15. Song J., Bi J., Chen Q., Wu X., Lyu Y., Meng X. Assessment of sugar content, fattyacids, free aminoacids, and volatile profiles in jujube fruits at different ripening stages. *Food Chem* 2019; 270: 344-52.
16. Abdeddaim M. Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique *(celtis australis L, crataegus azarolus L, crataegus monogyna J, elaeagnus angustifolia L, et zizyphus lotus L.* http://dspace.univsetif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1623*)*
17. Maamei–Habibatni Z. *Pistacia lentiscus* L. Evaluation pharmaco-toxicologique. Thèse de Doctorat. Université de Constantine I. https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/MAA6494

18. Djerrou Z. Anti-hypercholesterolemic effect of *Pistacia lentiscus* fatty oil in egg yolk fed rabbits: a comparative study with simvastatin. *Chin J Nat Med* 2014;12(8): 0561-6.
19. Boukelouaa A., Belkhirib A., Djerroua Z., Bahri L., Boulebdad N., Pachaa YH. Acute toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils mice. *Afr J Tradit Complem Altern Med* 2012; 9(4): 607-11.
20. Zaanoun I., Gharby S., Bakass I., Ait Addi E., Ait Ichou I. Kinetic parameter determination of roasted and unroasted argan oil oxidation under Rancimat test conditions. *Grasas Aceites* 2014; 65(3): e033.
21. Charrouf Z., Guillaume D. Argan oil : Occurrence, composition and impact on human health. *Eur J Lipid Sci Technol 2008;*110(7): 632-6.
22. El Harfi M., Nabloussi A., Rizki H., Latrache H., Ennahli S., Hanine H. Biochemical assessment of the genetic diversity among thirteen moroccan genotypes of sesame *(Sesamum indicum*). *Int J Dev Res* 2015;5: 4010-20**.**
23. Etournaud A. Chimie des denrées alimentaire les lipides.2007.https://dokumen.tips/embed/v1/ chimie-des-denrees-alimentairesglucides-a-chimie-des-denreesalimentairesglucides?page=1
24. Bereau D. Huiles et fractions insaponifiables de huit espèces de palmiers amazoniens. https://www.theses.fr/2001INPT005G
25. Rentang Z., Xin S., Sriram K., Vidyarthi SK., Fang-zhou W., Yanlei Z., Zhongli P. Characteristics of fatty acids in the Chinese jujube fruits (*ZiZiphus jujuba* Mill.). *J Agric Food Res* 2021;4: 100129.
26. El Hachimi F., El Antari A., Boujnah M., Bendrisse A., Alfaiz C. Comparaison des huiles des graines et de la teneur en acides gras de différentes populations marocaines de jujubier, de grena-dier et de figuier de barbarie. *J Mat Environ Sci* 2015;*6*(5): 1488-502.
27. Elkassouani N. Les produits cosmétiques pour les soins du visage. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat. 2013.
28. Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker, P. Determination of the fatty acid composition of acorn (Quercus), Pistacia lentiscus seeds growing in Algeria. *J Am Oil Chem Soc* 2008;85(10): 921-4.
29. Santoyo S., Lioria R., Jaime L., Ibanez E., Seno-rans FJ., Reglero G. Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. *Eur Food Res Technol* 2006; 224: 75-81.
30. Gusakova SD., Sagdullaev Sh., Aripov KN., Basher KHC., Kurkcuoglu M., Demirci B. Isomers of palmitolic acid in lipids and volatile substances from the fruits of *Ziziphus jujube*. *Chem Nat Compunds* 1999;35(4): 401-3.
31. Zhao J., Li SP., Yang FQ., Li P., Wang YT. Simul-taneous determination of saponins and fatty acids in *Ziziphus jujube* (Suanzaoren) by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection and pressurized liquid extraction. *J Chromatogr* 2006;1108(2): 188-94.