



Université Libre De Tunis
Groupe BOUEBDELLI

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Institut Supérieur Polytechnique privé



Rapport de stage

*Essai de valorisation des
feuilles et des graines de
ziziphus Spina-christi
L.(Nabag)*

Elaboré par

Mabrouk Sarah

Réalisé au sein de

L'Institut National de la Recherche en Génie Rural ; Eaux et Forêts

Encadré par

Encadrant(s) industriel(s)
EI ALOUI MERIEM

Année Universitaire 2018-2019



TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	3
Présentation de la société : INRGREF	4
Introduction/contexte	5
Présentation du Ziziphus Spina-Christi	6
Description botanique	7
Propriétés médicales	8
Quelques utilisations et effets	8
Graines	9
Matériel et méthodes	10
Matériel	10
Méthodes	10
Feuilles	16
Etude Théorique	20
Etude Expérimentale	21
Matériel et methods	21
Formulation du shampoing	26
Conclusion	26
Conclusion Générale	27
Sources	27



REMERCIEMENTS

Je remercie 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 professeur, **Dr. Zaghdoudi Khalil** qui m'a beaucoup aidé dans ma recherche de stage et m'a permis de postuler dans cette entreprise. Son écoute et ses conseils m'ont permis de cibler mes candidatures, et de trouver ce stage qui était en totale adéquation avec mes attentes.

Je tiens à remercier vivement mon maître de stage, **Mme Keffi Aloui Mariem** au sein de l'entreprise **INRGREF**, pour son accueil, le temps passé ensemble et le partage de son expertise au quotidien. Grâce aussi à sa confiance j'ai pu m'accomplir totalement dans mes missions. Il fut d'une aide précieuse dans les moments les plus délicats.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire de **Mr Laamouri Abdelwahed** pour leur accueil, leur esprit d'équipe et en particulier **Mr Nasri Housseem** qui m'a aidé tout le long de la période de stage au niveau pratique et théorique du projet.

Enfin, je tiens à remercier mon père qui m'a conseillé et relu et corrigé ce rapport de stage.



PRÉSENTATION DE LA SOCIÉTÉ : INRGREF



FIGURE 1. INRGREF ⁽¹⁾

L'**Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts** est couramment désigné sous l'acronyme **INRGREF**, est un centre de recherche scientifique et technique dans les domaines des eaux, forêts et génie rural.

Il se situe au centre urbain nord, à quelques mètres de la faculté **INSAT**

Cet institut assure plusieurs missions dont les plus stratégiques sont : ⁽²⁾

- contribuer à l'élaboration de la politique nationale de recherche dans les domaines des Eaux, des Forêts et du Génie Rural.
- organiser et exécuter toute recherche scientifique en relation avec les domaines précités.
- participer à la protection, à la conservation et à la rationalisation de l'exploitation des ressources naturelles et de l'espace rural.
- valoriser les résultats de ses recherches et de son savoir-faire scientifique.
- participer au développement de la recherche scientifique et technique et à son insertion dans le domaine économique et social.
- entreprendre toute recherche ou expérimentation ou expertise destinée à l'identification, l'analyse, la sélection, l'adaptation et la maîtrise des technologies dans les différents domaines du génie rural, des eaux et des forêts.
- Entreprendre des recherches documentaires en vue de connaître, de suivre et d'analyser l'évolution des technologies dans les domaines intéressant l'économie nationale.



- contribuer à la formation doctorale des étudiants dans le cadre des programmes de l'institut.
- organiser des manifestations scientifiques pour permettre l'assimilation et la maîtrise des technologies retenues.
- favoriser le partenariat dans le domaine de la recherche scientifique et du développement technologique, avec les établissements d'enseignement supérieurs et de la recherche ainsi qu'avec les établissements et les entreprises publics ou privés ou dans le cadre de la coopération internationale.
- exercer une activité de promotion scientifique et technologique et participer aussi à celle d'expertise et de veille au service de l'économie dans les domaines

INTRODUCTION/CONTEXTE

Le shampoing est considéré comme le produit cosmétique le plus utilisé dans le monde. Son premier rôle a toujours été de nettoyer les cheveux.

Les shampoings ont plusieurs autres effets bénéfiques. Il n'en reste pas moins qu'ils ont, par contre plusieurs effets secondaires nocifs pouvant dans certains cas détruire complètement les cheveux.

Ces dernières années, l'utilisation des produits bio, d'origine naturelle a commencée à ressusciter un intérêt, sans cesse croissant, car ils présentent moins d'effets indésirables pour les cheveux.

En Tunisie nous possédons plusieurs espèces végétales qui ont des propriétés chimiques et biologiques intéressantes pour l'hygiène humaine. Malheureusement ces espèces ne sont pas exploitées et courent le risque de disparition par érosion d'ou la perte de richesse du pays.

Une des espèces les plus ignorées est **Ziziphus spina-christi**, connu sous le nom du Siddir (nom de l'arbre) et Nabq (nom du fruit).

Cette plante a été utilisée depuis longtemps dans des produits artisanaux pour ses effets bénéfiques nettoyants des cheveux, sans être utilisée industriellement dans des shampoings.

⁽³⁾

Le but de notre travail est de formuler pour la première fois en Tunisie, un shampoing à base des feuilles de *Ziziphus spina-christi*



PRÉSENTATION DU ZIZIPHUS SPINA-CHRISTI



Figure 2. Arbre de Ziziphus spina-christi

Le ziziphus spina-christi est connu sous les noms courants : ⁽⁴⁾

Europe : *Jujubier* : le nom de l'arbre

Jujube : le nom du fruit

Pays arabes : *Siddir/sidr*: le nom de l'arbre

Nabq : le nom du fruit



Rhamnaceae famille □ Zizyphus gène □ Spina-Christi espèce

Zizyphus spina-christi est connue aussi sous plusieurs noms scientifiques : (4)

- Zizyphus spina-christi (L) WILLD : le jujubier de palestine ou à épines de christ
- Zizyphus africana MILL
- Zizyphus sphaerocarpa TULSANE

Zizyphus spina-christi est une espèce appartenant à la famille des Rhamnaceae, c'est une plante qui s'est acclimatée aux temps durs de sécheresse et chaleurs.

Elle peut grandir pour devenir un arbre, mais à cause des quantités intensives d'herbes parasites et la récolte de son bois pour l'utilisation comme fuel, Zizyphus spina-christi reste sous la forme d'un arbuste épineux

Cette plante est connue par son pouvoir régénérateur important; qui est dû aux réserves de Carbohydrates dans ses racines ⁽⁵⁾

DESCRIPTION BOTANIQUE

L'arbuste est toujours en verdure, les feuilles sont distinguées par 3 veines au centre, Son écorce blanche qui tend au marron ou au gris, Leurs fleurs présentent un très bon parfum

La période de floraison du Zizyphus spina-christi est du mois de Aout jusqu'au mois de décembre et le temps de fructification est du mois d'Octobre au mois d'Avril ⁽⁵⁾

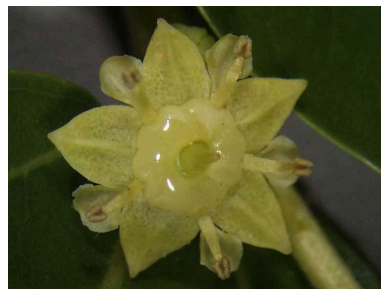


Figure 3. fleur du jujubier (6)

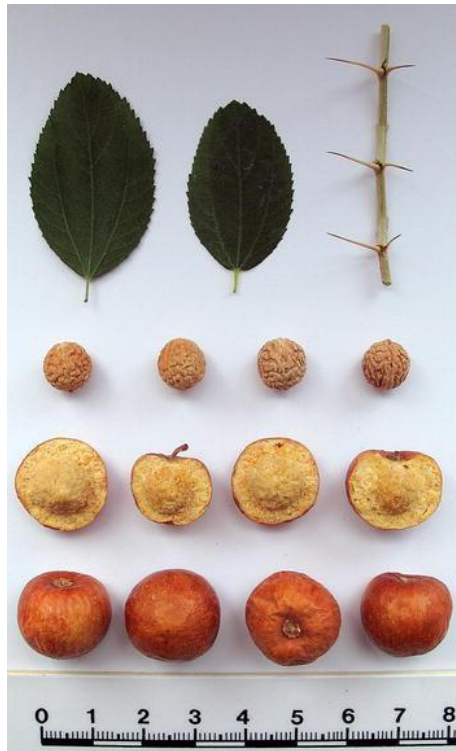


Figure 4 Feuilles, épines, graines et fruits du *Ziziphus spina-christi*(échelle en cm) (5)

PROPRIÉTÉS MÉDICALES

Le gène *Ziziphus* est connu par ses effets :

- Hypoglycémiques
- Hypotensives
- Antioxydants
- Anti-inflammatoires
- Antimicrobiens
- Stimulants du système immunitaire
- Anticancéreux
- Protectifs de la fois

QUELQUES UTILISATIONS ET EFFETS

Fruits ⁽⁵⁾	Feuilles ⁽⁵⁾	Grains ⁽³⁸⁾	Autres ⁽⁵⁾	Traditions ⁽⁵⁾
-----------------------	--------------------------------	-------------------------------	-----------------------	---------------------------



Traiter la diarrhée	Guérir les plaies	effets antimicrobien contre	<u>Petites branches:</u> Rheumatism et piqûres de scorpion	<u>Musulmans:</u> création des chapelets
Traiter le paludisme	Traiter la diarrhée	l'Aspergillus nuger et Candida albicans (2 champignons)	<u>Ecorce :</u> Traiter les spasmes intestinaux	<u>Chrétiens:</u> Couronne d'épines de jésus Christ
Effet sédatif	Effet anti-inflammatoire pour les yeux	et contre les bactéries suivantes:	Nettoyer les plaies	<u>Autres religions basées sur la nature :</u> superstitions en utilisant les racines
Traiter la rougeole	Adoucir les cheveux et le visage	E.Coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus et Bacillus subtilis	<u>Cendres :</u> +épines : guérir les morsures de serpent	
Traiter les problèmes respiratoires	Substituant pour les shampoings ⁽³¹⁾			

DE QUELLE MANIÈRE PEUT-ON VALORISER CETTE PLANTE, TOUT EN CONSERVANT SES PROPRIÉTÉS POSITIVES / CURATIVES?

GRAINES

Le nbag est un fruit charnu c'est-à-dire que c'est un fruit bien constitué de chair (pulpe) ; il appartient à une famille de fruits s'appelant la famille des drupes

En effet, Les drupes sont des fruits ayant un noyau unique, ce noyau est solide et très dur, il contient une seule graine appelée, souvent, amande ^{(7) (8)}





Figure 5. Jujube mûr (7)



Figure 6. Noyau extrait d'un jujube(7)

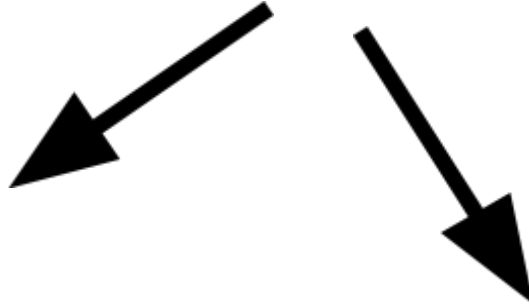


Figure 7. Coupe transversale du noyau (7)



Figure 8. Graine (Amande)

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIEL

Les fruits sont collectés des oasis tunisiens au mois de mars 2019. Ils sont transportés au laboratoire de gestion et de valorisation des ressources forestières à l'INRGREF

MÉTHODES

I. Séparation des fruits de leurs graines



Les fruits sont lavés par eau froide puis séparés de leurs graines manuellement



Figure 9. Lavage

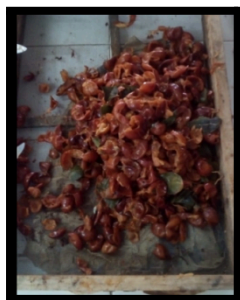


Figure 10. Ecorce

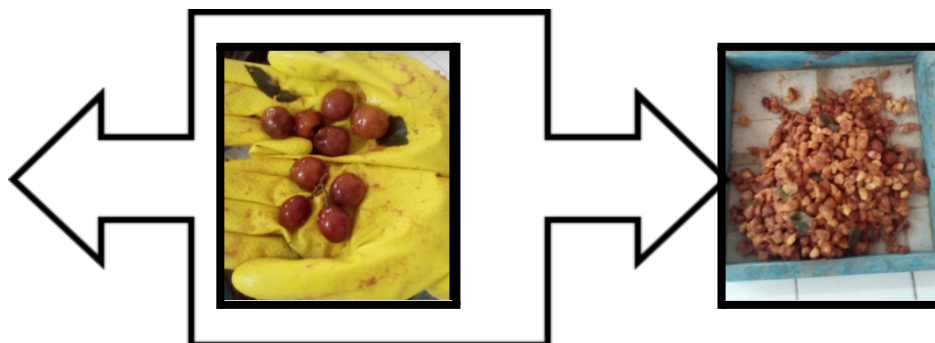


Figure 11. Fruit du Sidr

Figure 12.

Noyaux

II. Différents étapes de préparation des graines de Ziziphus spina-christi

1. Séchage des fruits

Le séchage des noyaux est fait dans un premier temps à l'air libre pendant plusieurs heures puis ils sont transférés dans une étuve à **30°C pendant 2 jours** pour éviter leur contamination et détérioration.



Figure 13. Séchage des graines et des écorces de Ziziphus spina-christi

2. Emiettage des graines



L'extraction des graines à partir de leurs noyaux est faite en utilisant un mortier et un pilon, l'émiettement a duré **3 jours**



Figure 14. Noyaux séchés

Figure 15. Emiettage des graines

Ensuite les graines sont séparées des noyaux manuellement :



Figure 16. Noyaux vides



Figure 17. graines/Amandes

On a obtenu 4 types de graines à partir de 4 écotypes de z.spina christi :



FIGURE 18. DIFFERENTS TYPES DE GRAINES DE ZIZIPHUS SPINA CHRISTI

RÉSULTAT :

- Masse des noyaux vides = 578 g
- Masse des graines = 43 g +20g =63g

3. Extraire l'huile à partir des graines

• Caractéristique et composition de l'huile des graines du z.spina-christi

D'après l'article (38), qui étudie l'huile des graines extrait par l'éther de pétrole :

TABLEAU 1 CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUE DE L'HUILE DU ZIZIPHUS SPINA CHRISTI

Indice de réfraction	1.467
Densité	0.928 g/cm³



viscosité	37.31 Poise
-----------	-------------

TABEAU 2 LES ACIDES GRAS PRÉDOMINANTS DANS L'HUILE DE ZIZIPHUS SPINA CHRISTI

Acides gras prédominants	Pourcentage
linoléique	35.86%
Oléique	19.83%
Palmitique	15.41
stéarique	8.75%

Pour extraire l'huile végétale des graines du ziziphus spina christi on a utilisé deux méthodes :

EXTRACTION PAR SOXHLET

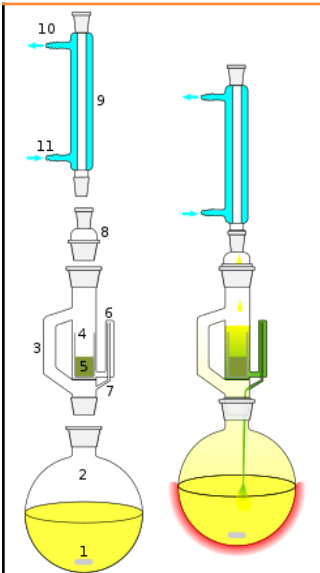


Figure 19. Soxhlet (9)

- 1 Agitateur magnétique
- 2 Ballon à col rodé
- 3 Retour de distillation (tube d'adduction)
- 4 Corps en verre
- 5 Filtre
- 6 Haut du siphon
- 7 Sortie du siphon
- 8 Adaptateur d'expansion
- 9 Condenseur
- 10 Sortie de l'eau de refroidissement
- 11 Entrée de l'eau de refroidissement

Principe de l'extraction par Soxhlet: ⁽¹¹⁾

l'extraction par soxhlet est un type d'extraction solide-liquide qui se base sur la dissolution d'un soluté, présent dans une matrice solide, dans un solvant approprié à température élevée

Le réchauffement du ballon entraîne l'évaporation du solvant, celui-ci est ensuite condensé dans le réfrigérant et les gouttelettes du solvant tombent dans la cartouche contenant le solide inerte en poudre, lorsque la cartouche est totalement pleine, elle se vide automatiquement par siphonage: le solvant coule à travers le siphon et retombe dans le ballon. On obtient à la fin un mélange entre le solvant et l'extrait⁽¹²⁾

+ Ce cycle se répète indéfiniment, ce qui permet d'épuiser la matrice totalement

A. Partie Théorique :


B. Partie Pratique : ⁽¹³⁾

Conformément au protocole expérimental trouvé dans l'article (13), on a utilisé une masse de graines broyées égale à **m= 42.68 g**, pour remplir la cartouche du Soxhlet au maximum, et



comme solvant on a choisi l'**hexane** qui a été introduit dans le ballon avec un volume **V= 350mL**.

Par contre dans le protocole, l'extraction doit durer 6 heures au minimum, mais par faute de temps et de matériel on l'a laissé pendant **4 heures** seulement.

conditions	Résultat	Remarques
<input type="checkbox"/> m = 42.68g <input type="checkbox"/> Hexane <input type="checkbox"/> V= 350 mL <input type="checkbox"/> t= 4 heures	 Figure 20. Huile+Hexane	Le mélange huile+hexane doit être ensuite mis dans un évaporateur rotatif pour pouvoir séparer le solvant de l'huile végétale. On n'a pas pu achever cette étape par faute de matériel.

Puisque l'extraction par Soxhlet a pour inconvénient la possibilité de dégradation de certaines substances chimiques, on a décidé d'essayer une autre méthode d'extraction qui est la méthode de Folch.

EXTRACTION PAR LA MÉTHODE DE FOLCH

A. Partie Théorique :

Définition de la méthode de Folch : ⁽¹⁴⁾

La méthode d'extraction de Folch est utilisée pour isoler des lipides à partir d'échantillons biologiques, elle met en jeu un solvant constitué de chloroforme, du méthanol et de l'eau dans les proportions volumétriques : 8/4/3 (v/v/v)

Cette méthode joue sur la solubilité des lipides dans une ou plusieurs phases du solvant utilisé.

B. Partie Pratique :

MODE OPÉRATOIRE : ⁽¹⁵⁾

- I. Une prise d'essai de **20g** de poudre de graines est placée dans un Erlenmeyer, dans lequel on a ajouté un volume de **200 ml** d'une solution chloroforme/méthanol 2/1 v/v ; Ensuite, le mélange a été, mis sous agitation pendant **3 heures à 500 tour/s**
- II. Le mélange filtré a été récupéré dans un Becher et le précipité a été lavé avec **50 mL** du mélange chloroforme/méthanol.
- III. Ensuite, **80mL** d'une solution de **NaCl** de pureté **0.58%** a été ajoutée à la solution, L'ensemble a été agité puis laissé s'équilibrer pendant **2 jours**, la phase



Chloroformique a été séchée par ajout d'une poudre de MgSO_4 anhydre et récupérée dans un bécher.

IV. Le chloroforme a été évaporé à l'aide d'une plaque chauffante à une température aux alentours de 45°C dans le but d'éliminer le solvant.



Figure 1. Mélange graine en poudre, chloroforme et éthanol sous agitation (I)

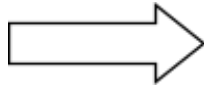


Figure 2. Mélanges récupéré et précipité lavé avec un mélange chloro./méth.(II)



Figure 4. Résidus de la filtration



Figure 3. Agitations après l'ajout d'une solution de NaCl (III)



Figure 4. Formation de 2 phases à l'équilibre (III)

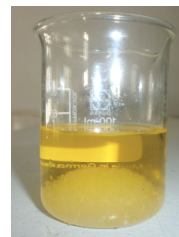
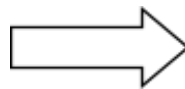


Figure 5. Séparation de la phase chloroformique et ajout de MgSO_4



Figure 6. Huile du z. spina christi obtenue

● Préparation du solvant :

Une masse de graines broyées égale à $m=20\text{g}$ a été ajoutée à un volume de solvant $V= 200\text{ mL}$; celui-ci est constitué de méthanol et de chloroforme avec :

$$V_1=V(\text{chloroforme}) = 134\text{ mL}$$

$$V_2 = V(\text{méthanol}) = 66\text{ mL}$$

● Préparation de la solution de NaCl :

Sachant que la pureté de la solution de NaCl est égale à **0.58%** donc :

Pour **100 mL** d'eau on doit avoir **0.58 mL** de NaCl

En appliquant la règle de 3 pour 80mL, on obtient un volume v de NaCl égal à:

$$v= 0.464\text{mL}$$

D'autre part :

$$d = \frac{\rho(\text{NaCl})}{\rho(\text{eau})} ;$$

$$\rho = \frac{m(\text{NaCl})}{V(\text{NaCl})} \Rightarrow m(\text{NaCl}) = \rho(\text{NaCl}) * V(\text{NaCl})$$

$$\text{A.N. : } m(\text{NaCl}) = 2.17(\text{g/cm}^3) * 0.464(\text{cm}^3) = 1\text{ g}$$

$$\Rightarrow m(\text{NaCl})=1\text{g}$$

- la solution de NaCl est constituée de 1g de NaCl solide dans 80mL d'eau pure

RÉSULTATS :

Masse de l'huile dans le premier flacon : $m_1=2.81\text{ g}$ Rendement = *100

Masse de l'huile dans le deuxième flacon : $m_2=1.80\text{g}$

AN:

Rendement = *100 = **23.05 %**



FEUILLES



FIGURE 21. FEUILLES DU ZIZIPHUS SPINA-CHRISTI

1. Description

Les feuilles du Ziziphus Spina-Christi sont assez simples ; elles ont une forme elliptique, leur longueur varie entre 1 cm et 9 cm et leur largeur est entre 1 cm et 3.5 cm.

Elles sont lisses et peuvent être distinguées par les trois veines visibles qui se rejoignent dans le sommet de chaque feuille. ^(16, 17)

2. Effets

Il a été prouvé que l'extrait des feuilles du ziziphus spina-christi a plusieurs effets bénéfiques, parmi lesquels on cite l'effet antibactérien (contre : salmonella, S.aureus, E.coli.), l'effet analgésique ⁽¹⁶⁾, l'effet antioxydant et enfin **un effet qui favorise la croissance des cheveux** ⁽¹⁸⁾.

COMPOSITION CHIMIQUE

Chaque plante synthétise d'une façon naturelle des composés chimiques. Certains sont responsables de la coloration des feuilles et des fleurs, d'autres ont des propriétés organoleptiques : c'est-à-dire qu'ils peuvent être détectés par une ou plusieurs organes des sens de l'être humain (goût, odeur, flaveur)

Ces composés biologiques ne sont pas essentiels à la nutrition humaine

Ils sont appelés des **Phytoconstituants (phyto = plante en grec)**. ⁽²²⁾



Depuis la nuit des temps, **Les phytoconstituants** sont considérés comme des médicaments végétaux ⁽²³⁾

Sur des feuilles de la plante *Ziziphus spina-christi*, on a réalisé l'extraction des phytoconstituants qui sont à la base du produit final (shampooing) en utilisant un solvant hydro-alcoolique.

L'extrait obtenu se compose de polyphénols, saponins et tannin ⁽²¹⁾ :

TABLEAU 3. COMPOSITION DE L'EXTRAIT ÉTHANOLIQUE DES FEUILLES DU *Z.SPINACHRISTI* ⁽²¹⁾

Results of the phytochemical screening of ethanolic extracts of *Z. spinachristi*.

Organic compounds	<i>Z. spinachristi</i>
Alkaloids	-
Anthraquinones	-
Cardiac glycosides	-
Phlobatannins	-
Polyphenols	+
Resins	-
Saponins	+
Tannin	+

Key: + = present, - = absent.

Les feuilles du *ziziphus spina-christi* possèdent d'autres phytoconstituants comme des acides gras et des stérols et dont l'étude sort de notre objectif.

1. Polyphénols

• Définitions :

Les polyphénols, comme leur nom l'indique, sont des molécules ayant dans leurs structure au moins 2 groupements phénoliques (benzène + groupement alcool : OH) ⁽³¹⁾. Ce sont des molécules organiques synthétisées surtout par les végétaux ⁽³²⁾. Les flavonoïdes en font partie. Ces derniers sont des pigments d'origine végétale qui comprennent dans leur structure chimique deux cycles aromatiques liés par 3 carbones : C₆-C₃-C₆. Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des feuilles et des fleurs. ^(31, 32)

• Flavonoïdes présents dans les feuilles du *z. spina-christi*

Une recherche réalisée en 2015 par *Aloui et al* ⁽¹⁹⁾ a montré que la feuille présente 2 flavonoïdes prédominants, l'**Apigénin** et le **Rutin** :

□ L'Apigénin : **C₁₅H₁₀O₅** :



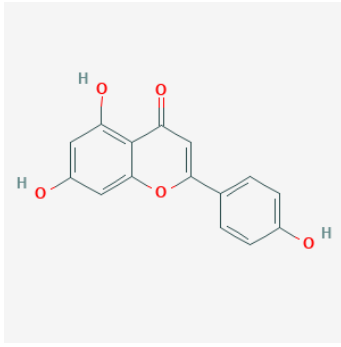


FIGURE 22. FORMULE CHIMIQUE DE L'APIGENIN ⁽³⁴⁾

□ Le Rutin (= Rutoside) : $C_{27}H_{30}O_{16}$:

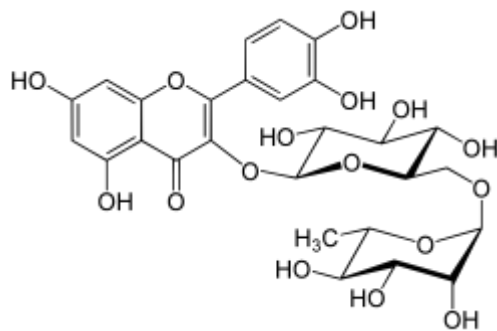


FIGURE 23. FORMULE CHIMIQUE DU RUTIN ⁽³⁵⁾

Ces deux flavonoïdes sont présents dans les feuilles dans les taux indiqués dans l'histogramme suivant :

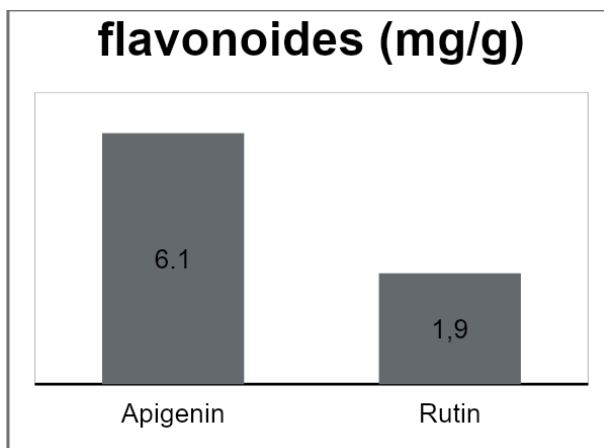


FIGURE 24. TAUX DES FLAVONOÏDES PRÉDOMINANTS DANS LES FEUILLES DU ZIZIPHUS SPINA CHRISTI (MG/G) ⁽¹⁹⁾

2. Tannin

Le tannin ou acide tannique ⁽³⁶⁾ est une substance hydrosoluble d'origine végétale, de la famille des polyphénols ⁽³⁵⁾ .

Il a été utilisé en particulier dans la prévention des bulles cutanées secondaires aux brûlures de la peau et pour son effet anti-inflammatoire ⁽³⁶⁾.

3. Saponines

Définition

Les saponines ou glycosides de saponines sont des acides d'origine végétale. Ils sont des hétérosides (sucre+molécule non glucidique) complexe. La molécule non glucidique peut être un stéroïde, un alcaloïde ou un triterpène et dont la solution aqueuse forme une mousse abondante après agitation ⁽²⁴⁾.

4 types de saponines ont été isolés:

1. christinin A
2. christinin B
3. christinin C
4. christinin D

La saponine prédominante est la **Christinin-A** qui est une saponine stéroïde dont la formule chimique est la suivante :

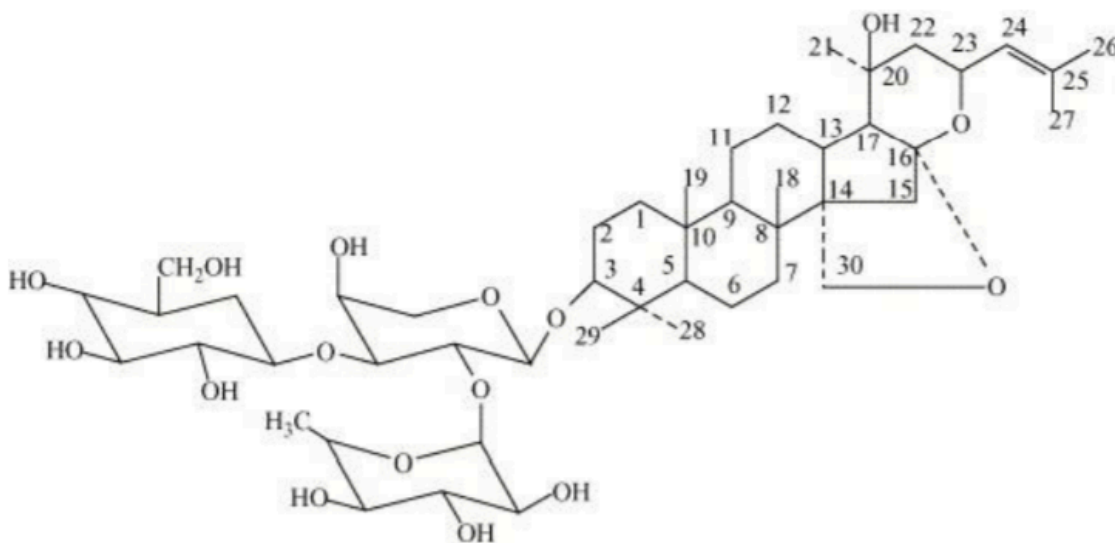


FIGURE 25. STRUCTURE MOLÉCULAIRE DU CHRISTININ-A ⁽¹⁶⁾

- Il a été prouvé que les tannines, saponines et polyphénols ont une activité antioxydante et antimicrobienne ⁽²¹⁾

ETUDE THÉORIQUE

a) Extraction à partir des plantes ^(27, 28)

C'est l'extraction de certains composants ayant des effets désirables à partir d'une plante.

Il s'agit d'une séparation solide/liquide : la plante (solide) est mise en contact avec la phase liquide (solvant).

L'agent actif présent dans la plante va être solubilisé dans le solvant.

L'extrait de la plante sera isolé par élimination du solvant (ie : par évaporation) , figure 11 :

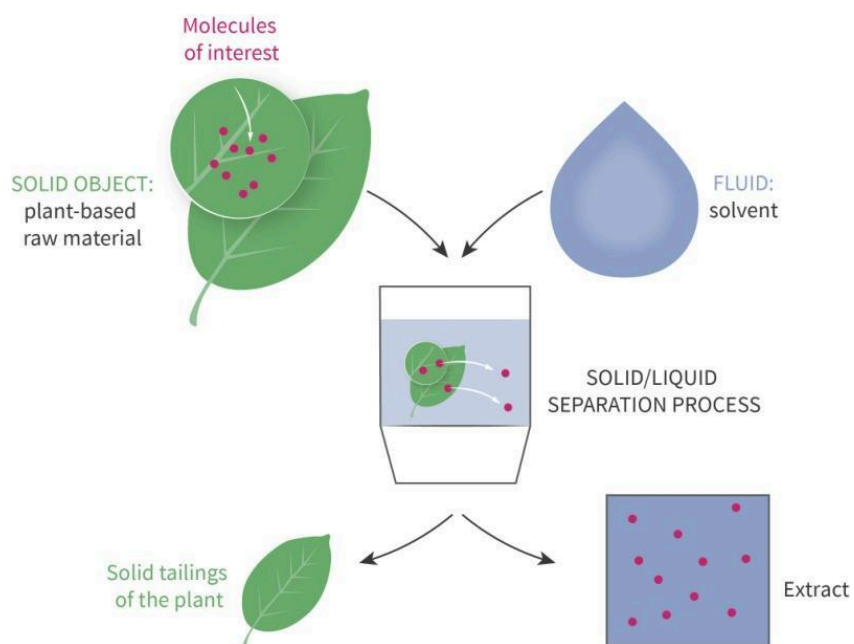


FIGURE 26. PROCÉDURE D'EXTRACTION (20)



b) Protocole expérimental de l'extraction^(21, 29, 30)

1. Collecter des feuilles du *Ziziphus spina-christi*
2. Laver les feuilles avec l'eau et les laisser sécher
3. Broyer les feuilles
4. tamiser les feuilles pour éliminer les impuretés
5. Bouillir un mélange de poudre et d'eau pure pendant 2h
6. Mélanger les feuilles avec une solution d'éthanol (70% v/v) pendant 72h
7. Filtrer la solution avec un papier filtre
8. Evaporer jusqu'à avoir un extrait semi-solide (T entre 50°C et 55°C)
9. stocker l'extrait dans des tubes en plastiques à l'abri de la lumière et à température ambiante

ETUDE EXPÉRIMENTALE

MATÉRIEL ET METHODS

MATÉRIEL

Les feuilles sont collectées de l'arbre du *Ziziphus spina-christi* durant le mois de juillet 2019 au sein de l'INRGREF.

MÉTHODES

1) Collecter des feuilles du z.spina-christi



FIGURE 27. FEUILLES DU *ZIZIPHUS SPINA-CHRISTI*



Les feuilles sont cueillies à partir d'un arbre dans le centre INRGREF (Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts) à Tunis (au mois de juillet 2019).

L'arbre a été identifié par Aloui Mariem, docteur en biologie responsable au centre.

2) Sécher les feuilles

Le séchage est fait dans l'étuve pendant 24h à faible température ($T= 30^{\circ}\text{C}$) pour éviter d'endommager les feuilles :



FIGURE 28. SÉCHAGE DES FEUILLES DANS L'ÉTUVE

3) Broyer les feuilles



FIGURE 29. PHOTO DU BROEUR DE PLANTES À L'INRGREF

4) tamiser la poudre pour éliminer les impuretés

Masse des feuilles broyées et tamisées :

$M_1 = 50.075 \text{ g}$

$M_2 = 50.0246 \text{ g}$

Masse totale :

$M_t = 100,0996 \text{ g}$

5) Bouillir les feuilles dans l'eau pure

On a pris une quantité de feuilles de masse : **20.3 g** et on l'a mélangé dans un volume de **500 ml** d'eau pure

Les feuilles sont bouillies dans l'eau pure pendant **2 heures** tout en **agitant** continuellement.





FIGURE 30. BOUILLIR LE MÉLANGE DE FEUILLES ET D'EAU PURE

Masse finale du liquide visqueux (eau/feuilles) : **mf = 175.85 g**

6) Mélanger les feuilles avec une solution d'éthanol

puis laisser le mélange reposer pendant 72 heures



FIGURE 31. MÉLANGE DE FEUILLES ET D'ÉTHANOL

Aspect quantitatif :

1 g dans 20 ml de solvant

Soit **175.82 g** dans **3516.4 ml** de solvant, difficile à utiliser en pratique.

Donc on a décidé de dissoudre la moitié de masse du liquide visqueux obtenu

$$m = mf/2 = \frac{175.82}{2} = \mathbf{87.91 \text{ g}} \text{ (contenant } \mathbf{10.15 \text{ g}} \text{ de feuilles broyées)}$$

Par conséquent :

0.5 g □ 10 mL

87.91 g □ **879.1 mL de solvant**

Sachant que le solvant est constitué de 70% d'éthanol et de 30% d'eau pure alors :

V (éthanol) = 615 mL

V (eau) = 264 mL



7) Filtrer la solution

La solution a été filtrée avec un papier filtre, pour éliminer la partie solide (la poudre des feuilles)

On a laissé la solution filtrer pendant **2 jours**



FIGURE 32. FILTRATION

On a remarqué qu'une petite quantité de l'extrait mélangée avec l'eau a pu former une mousse abondante, ceci prouve la présence des saponines dans l'extrait éthanolique:



FIGURE 33. MÉLANGE D'EAU ET D'EXTRAIT DES FEUILLES

8) Evaporer le solvant

Pour évaporer le solvant, on a mis le mélange dans l'étuve à **40°C** pendant **5 jours**

On a remarqué qu'il y avait un changement de volume important par rapport au premier jour mais la solution n'a pas été séchée complètement

Donc pour accélérer l'évaporation on a divisé la solution sur plusieurs béchers et on les a mis sur une plaque chauffante à une température entre **40°C et 55°C**



On a essayé aussi d'évaporer le solvant sur une chauffe ballon, mais vu que sa température n'est pas précise, on a arrêté le chauffage après quelques minutes



FIGURE 34. EVAPORATION DU SOLVANT

9) Collecter le semi-solide trouvé



FIGURE 35. HUILE RÉSULTANTE

RÉSULTATS

❖ Masse du semi-solide trouvé :

F1 : m1= 2.3 g

F2 : m2= 1.69 g **Mt= 4.74 g**

F 3 : m3= 0.75 g

❖ Rendement : (liquide/solide)

$$R = \frac{m_i}{m_t} * 100$$

AN:



$$R = \frac{4.74}{10.15} * 100 = \mathbf{46,69 \%}$$

FORMULATION DU SHAMPOOING

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL (31)

1. Ajouter l'extrait semi-solide des feuilles à un mélange(A) composé de :
 1. **1ml** de jus de citron
 2. **25ml** d'eau distillée
 3. **2.5 ml** d'huile d'olive



FIGURE 36. MÉLANGE A

2. Ajouter une solution de gélatine (**5%**) jusqu'à avoir la viscosité souhaitée
3. Agiter le mélange pendant **10 min**
4. Doser avec une solution d'acide citrique (**1%**) jusqu'à avoir un pH neutre

La période consacrée au stage (un mois) ne nous a pas permis d'achever cette étape qui sera réalisée ultérieurement par l'encadrante Mme Aloui Mariam dans l'INRGREF.

CONCLUSION

Le gène Ziziphus a plusieurs propriétés curatives et bénéfiques pour la santé, il peut être valorisé par plusieurs manières, parmi lesquelles on a choisis la formulation d'un shampooing bio.

Ce projet n'est pas achevé et peut être modifié et amélioré, on peut suggérer :



- Une analyse de l'huile extraite des graines par la méthode de Folch et par Soxhlet, et déduction de la méthode qui conserve plus les propriétés de l'huile.
- Une analyse de l'huile extraite des feuilles.
- Utiliser l'huile des graines du ziziphus spina-christi au lieu de l'huile d'olive pour la fabrication du shampooing.

CONCLUSION GÉNÉRALE

j'ai effectué mon stage d'été en tant qu'ouvrière au sein de l'entreprise INRGREF. Lors de ce stage de 1 mois, j'ai pu mettre en pratique mes connaissances théoriques en chimie analytique, acquises durant ma première année génie chimique et me suis confronté aux difficultés du monde du travail et du management au sein d'un laboratoire dans le secteur de la chimie.

SOURCES

(1) <http://eau-climat-maghreb.net/>



- (2) <https://www.ird.fr/les-partenariats/principaux-partenaires-scientifiques/mediterranee/tunisie/inrgref>
- (3) Sirag Saied A., Gebauer J., Hammer K., Buerkert A. , 2007, “**Ziziphus spina-christi (L.) Willd.: a multipurpose fruit tree**”, *Springer Science+Business Media*
- (4) Munier P., « **LE JUJUBIER ET SA CULTURE** », FRUITS, mai 1973, vol.28,n°5, p.377-388.
- (5) Sirag Saied A., Gebauer J., Hammer K., Buerkert A. , 2007, “**Ziziphus spina-christi (L.) Willd.: a multipurpose fruit tree**”, *Springer Science+Business Media*
- (6) https://www.southernmatters.com/Bee_Plant/htm/Jujube.php
- (7) <https://docplayer.fr/14879493-Graines-pepins-et-noyaux-il-y-a-un-os.html>
- (8) <http://tpe-fruits.e-monsite.com/pages/les-fruits-charnus.html>
- (9) <https://fr.wikipedia.org>
- (10) EL ALOUI-KEFI M., « Suivi de la phénologie et caractérisation morpho-chimique comparés de quatre écotypes de *Ziziphus jujuba* (Miller) dans la station expérimentale de Rouhia (Tunisie) (semi-aride supérieur) », thèse de doctorat en sciences agronomiques, sous la direction de Pr. Brahim HASNAOUI, Tabarka , INAT, 2013, 169 p.
- (11) https://www.deltalab-smt.com/fr/genie-des-procedes/chimie/mp1035/extraction-solide-liquide-discontinue-soxhlet-et-distillation-discontinue_ca55.html
- (12) https://fr.wikipedia.org/wiki/Extracteur_de_Soxhlet
- (13) Soxhlet : Detry P. « Etude biochimique des fractions lipidiques de graines de la famille des apiacées obtenues par différentes méthodes d'extraction », projet en chimie et bioindustrie, sous la direction de Fauconnier M.L.,Gembloux,Agro-Bio Tech(GxABT) 2016-2017.
- (14) Eggers L.F., Schwudke D. (2016) Liquid Extraction: Folch. In: Wenk M. (eds) *Encyclopedia of Lipidomics*. Springer, Dordrecht
- (15) Detry P. « Etude biochimique des fractions lipidiques de graines de la famille des apiacées obtenues par différentes méthodes d'extraction », projet en chimie et bioindustrie, sous la direction de Fauconnier M.L.,Gembloux,Agro-Bio Tech(GxABT) 2016-2017.



- (16) Asgarpanah J. et Haghghat E.,2012, “**Phytochemistry and pharmacologic properties of Ziziphus spina christi (L.) Willd.**” *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 6(31), pp. 2332-2339, 22 August, 2012.
- (17) Sirag Saied A., Gebauer J., Hammer K., Buerkert A. , 2007, “**Ziziphus spina-christi (L.) Willd.: a multipurpose fruit tree**”, *Springer Science+Business Media*
- (18) Sekar M., Vishnu Priya N., Ramesh R., Suresh Kumar. G., 2016, “**Formulation and evaluation of hair tonic from ziziphus jujube leaf extract**”, *IJPCBS* 2016, 6(4), 447-454
- (19) Elaloui M., Laamouri A., Ennajah A., Cerny M., Mathieu C., Vilarem G., Chaar H., Hasnaoui B., 2015, “**Phytoconstituents of leaf extracts of ziziphus jujuma Mill. Plants harvested in Tunisia**”, *Industrial Crops and Products* 83 (2016) 133–139
- (20) <https://www.becarre-natural.com>
- (21) Abalaka M.E., Deniyan S.Y. et Mann A.,2010, “**Evaluation of the antimicrobial activities of two Ziziphus species (Ziziphus mauritiana L. and Ziziphus spinachristi L.) on some microbial pathogens**”, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 4(4), pp. 135-139, April 2010.
- (22) Neeraj V.,2016, “**Phytoconstituents and Their Mode of Extractions: An Overview**”, *Res J. Chem. Environ. Sci.(RJCES)* Vol 4 [2] April 2016: 08-15
- (23) <https://www.omicsonline.org/conferences-list/phytoconstituents>
- (24) https://www.memoireonline.com/09/15/9264/m_Screening-chimique-et-extraction-dh-uile-essentielle--scordophloeus-zenkeri-harms-et-croton-hauma3.html
- (25) Nawwar. M.A.M., Ishak M.S., Michael H.N et Buddrust J., 1983, “**LEAF FLAVONOIDS OF ZIZIPHUS SPINA-CHRISTI**”, *Phytochemistry*, Vol 23, No 9, pp. 21 pp.-21 11, 1984
- (26) <http://hennaforhair.com/hair-care/ziz/index.html> :
- (27) Chemical and Biological Investigations on *Zizyphus spina-christi* L. *Phytotherapy Research* (7) 15, 593-597 (2001) Shahat, A. A., Pieters, L., Apers, S., Nazeif, N. M., Abdel-Azim, N. S., Berghe, D. V., Vlietinck, A. J
- (28) <http://www.berkem.com/en/expertise-en/plant-extraction>



- (29) <https://www.becarre-natural.com>
- (30) Ali H., K Abdul Rasool, B., 2011, “**Formulation and evaluation of herbal shampoo from ziziphus spina leaves extract**”, *IJRAP* 2011, 2 (6) 1802-1806
- (31) Shakir. Z. et Sadeq Z. , “**Preparation of Sidr Shampoo from the Leaves and Evaluation of antibacterial studies, (project for 5th year students)**”, projet en sciences pharmaceutiques, supervisé par Fr. Hatam A. Jasim et Dr. Dawood Bahadily, Basra, College of pharmacy
- (32) <http://www.Wikipédia.org>
- (33) <http://futura-sciences.com/>
- (34) Nawwar. M.A.M., Ishak M.S., Michael H.N et Buddrust J., 1983, “**LEAF FLAVONOIDS OF ZIZIPHUS SPINA-CHRISTI**”, *Phytochemistry*, Vol 23, No 9, pp. 21 pp.-21 11, 1984
- (35) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Apigenin#section=2D-Structure>
- (36) <http://www.Wikipédia.org/>
- (37) <https://www.britannica.com/science/tannin>
- (38) Emtinan Musa Mohammed Ahamed, “**CharaCterization and BiologiCal Activity Study of ZiZiphus spina-Christi seed Oil**”, these de doctorate chimie, sous la direction de Dr. Mohamed El Mukhtar Abdel Aziz, Sudan, Sudan university of science and technology College of Graduate studies, 2016.



