

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF**

MEMOIRE

Présenté à la Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Option : Génie des procédés pharmaceutiques

Par

M^{elle} : Ben Abbes Farah

**Etude de quelques propriétés chimiques et
biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera L.* »**

Soutenu le 23/06 /2011 devant le jury composé de :

PRESIDENT :	Pr. M. BOUNKHEL	UFA-SETIF
PROMOTEUR :	Dr .R. BELHATTAB	UFA-SETIF
EXMINATEUR :	Pr .H. LAOUAR	UFA-SETIF
EXMINATEUR :	Dr. F.ROUABAH	UFA-SETIF

Année universitaire 2010-2011

REMERCIEMENTS

Comme le veut la tradition, la page des remerciements, est une tâche difficile qu'aucune expression, ni aucun geste, ne peut combler mes sentiments envers les gens, à qui Cette thèse n'aurait vu le jour sans la confiance, la patience et la générosité.

Je commence par adresser mes plus chaleureux remerciements à ceux dont le nom n'apparaît pas dans cette page et qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre à réaliser ce travail.

Je tiens à remercier mon promoteur **Dr. Belhattab** pour sa patience et ses précieux conseils, pour sa disponibilité exceptionnelle et ses nombreuses critiques constructives.

Je tiens à préciser que l'acquisition de données en si peu de temps aurait été impossible sans l'inestimable collaboration des professeurs dont il serait ingrat de taire les noms : **Pr. Kasseh Laouar, Pr. Djerbouaa** et surtout **Pr.Chafaa**.

Finalement, je remercie mes amies, ma famille pour leur encouragement et leur compréhension, un merci spécial a ma mère pour son intarissable amour, sans toi je ne serais jamais arrivée, ce diplôme est un peu le tien aussi PETITE MAMAN.

DEDICACES

A mes parents

Qui ont toujours cru en moi

Qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras

A mes frères et sœurs

Qui m'ont poussé à continuer

A mon professeur

Pour le savoir qu'il m'a transmis

A mes amis

Pour leur soutien

Sommaire

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Etude bibliographique

Chapitre I

Le palmier dattier

I. Généralités.....	3
II. Position systématique.....	3
III. Ecologie.....	3
IV. Répartition géographique.....	4
IV.1. En Algérie.....	4
IV.2. Dans le monde.....	4

Chapitre II

La datte

I. Définition.....	6
II. Formation et évolution.....	6
III. Les variétés de dattes.....	8
IV. Classification.....	8
V. Production.....	8
VI. Composition biochimique.....	9
VI .1. Composition biochimique de la partie comestible "Pulpe ".....	9

VI.1.1. Constituants majeurs.....	9
VI.1.2. Constituants mineurs.....	12
VI.2 Composition biochimique de la partie non comestible "Noyau".....	13
VII. Transformation de la datte.....	15
VII.1. Confiseries à base de datte.....	15
VII.2. La mise en valeur des déchets.....	15
VIII. Usage médicinal des dattes.....	16

Chapitre III

Les composés phénoliques

I. Généralités.....	17
II. Classification des composés phénolique.....	17
II.1. Les acides phénoliques.....	17
II.1.1. Les acides benzoïques.....	17
II.1.2. Les acides cinnamiques.....	18
II.2. Les flavonoïdes.....	18
II.2.1. Les flavonols (hydroxy-3-flavone).....	21
II.2.2. Les flavones.....	21
II.2.3. Les isoflavones.....	21
II.2.4. Les flavanones.....	21
II.2.5. Les flavanes.....	21
II.2.6. Les anthocyanes.....	22
II.3. Les tanins.....	22
II.3.1. Les tanins hydrosolubles.....	22
II.3.2. Les tanins condensés.....	24

Chapitre IV

Intérêt des composés phénoliques

I. Rôle physiologique.....	26
II. Rôle technologique.....	26
III. Rôle nutritionnel et thérapeutique.....	26
IV .Rôle antioxydant.....	29
V. Rôle antimicrobien.....	31

Partie expérimentale

Chapitre V

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal.....	33
I.1.Choix de la variété.....	33
I.2. Obtention et conservation des échantillons.....	33
I.3. Appareils et réactifs utilisés.....	33
II. Méthodes d'analyses.....	34
II.1. Caractérisation morphologique de la datte entière.....	34
II.2.Préparation des extraits.....	34
II.3.Détermination de la teneur des polyphénols totaux.....	37
II.4. Détermination de la teneur en flavonoïdes.....	38
II.4.1 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	38
II.4.2.Dosage des flavones et flavonols.....	38
II.5.Activité antioxydante et antiradicalaire.....	39
II.5.1. Mise en évidence de l'activité antioxydante par la méthode du β carotène.....	39
II.5.2.Test de blanchissement du β - carotène (the bleaching test).....	39

II.5.3. Test anti radicalaire (test DPPH).....	40
II.6. Etude de l'activité antibactérienne.....	41
II.6.1. Préparation des milieux de culture.....	41
II.6.2. Souches utilisées.....	42
II.6.3. Stérilisation du matériel.....	42
II.6.4. Préparation des dilutions d'extraits de datte.....	42
II.6.5. Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	42

Chapitre VI

Résultats et discussion

I. Caractéristiques de la matière première (<i>Deglet-Nour</i>).....	44
I.1. Caractéristiques morphologiques de la datte	44
II. Obtention et caractérisation des extraits de datte fraiche.....	44
II.1. Couleurs et aspects des extraits.....	44
II.2. Rendement des extractions.....	45
III. Composition chimique.....	46
III.1. Teneur en polyphénols totaux.....	46
III.2. Teneur en flavonoïdes.....	48
III.2.1. Teneur en flavonoïdes totaux.....	48
III.2.2. Teneurs en flavones et flavonols.....	49
IV. L'activité antioxydante et antiradicalaire.....	53
IV.1. Mise en évidence de l'activité antioxydante par la méthode du β carotène.....	53
IV.2. Test de blanchissement du β - carotène (the bleaching test).....	54

IV.3.Test anti radicalaire (test DPPH).....	57
V.L'activité antibactérienne.....	62
V.1.Les antibiogrammes.....	62
V.2.Sensibilité aux extraits bruts :	63
Conclusion.....	67
Références bibliographiques.....	68
Annexes	

ملخص

Phoenix dactylifera L. (دقلة نور) نبات صحراوي ذو ثمار قابلة للاستهلاك. تحصلنا على المستخلصات بنقع الثمار في مذيبات ذات قطبية تصاعدية: الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول. كان المرود 0.03، 0.14، 11.8، 16.02 % (ك/ك) على التوالي. تم تحديد كمية الفينولات الكلية باستعمال متفاعل Folin-Ciocalteu حيث وجد 0.552، 2.492، 339.84 و 381.27 ملغ مكافئ حمض الغاليك / 100 غ مادة طازجة بالنسبة لمستخلصات الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول (روب وتمر) على التوالي. قدرت الفلافونويدات بطريقة $AlCl_3$ وجدنا: 0.45، 0.67، 33.39، 41.76 ملغ مكافئ الكرسيتين / 100 غ مادة طازجة في مستخلصات الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول (روب وتمر) على التوالي. قدرت الفلافونولات و الفلافونات ما بين 0.157 و 24.67 ملغ مكافئ الكرسيتين / 100 غ مادة طازجة. ينحصر النشاط المضاد للأكسدة المقدر بطريقة البيتا كاروتين/حمض اللينولييك ما بين 33 و 55% وهو قريب من نشاط الشاهد BHA (55%) عند تركيز 2 ملغ /مل. كانت قيم IC_{50} المعبرة عن النشاط المضاد للجدر الحر 2، 2 ثنائي فينيل-1-بيكريل هدرأ زيل (DPPH) 924، 715.91، 64.84 و 55.6 ميكروغرام/ملل بالنسبة لمستخلصات الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول (روب وتمر) على التوالي بينما الخاصة بـ BHT 37.31 ميكروغرام /ملل. أبدى اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على 3 سلالات بكتيرية غرام+ و غرام- باستعمال طريقة انتشار الأقراص تأثيراً منبسطاً. كانت التراكيز الدنيا المثبطة 100، 20 و 20 ميكروغرام/ملل بالنسبة لـ: *E. coli*، *S. aureus*، *P. areuginosa* على الترتيب.

كلمات مفتاحية :

متعدد الفينول، دقلة نور، *Phoenix dactylifera*، روب، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا.

Abstract

Phoenix dactylifera L. (*Deglet-Nour*) is a desert plant with comestible fruits. Extracts were obtained by maceration of fruits using several solvents with increasing polarity: chloroform, éthyl acetate and ethanol, the yields were: 0.03 , 0.14, 11.8 and 16.02% (w/w) respectively . Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent and found to be: 0.552, 2.492, 339.84 and 381.27mg GAE /100 g FW in chloroform, ethyl acetate and ethanol (*robb* and dates) extracts respectively. Flavonoids were evaluated by AlCl₃ method and shown to be 0.45, 0.67, 33.39 and 41.76 mg QE/100 g FW in chloroform ,ethyl acetate extract, and ethanol (*robb* and dates) extracts respectively. The flavones and flavonols contents were between 0.157 and 24.67 mg EQ/100 g FW. Antioxidant activity was evaluated using β -carotene/linoleic acid system., it ranged between 33% and 55% for all extracts and seems to be closed to the BHA 55% when used at 2mg/ml. Free radical scavenging effects were evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), the IC₅₀ were 924 , 715.91, 64.84 , 55.6 μ g μ g/ml for chloroform, ethyl acetate and ethanol (*robb* and dates) extracts respectively , whereas BHT showed 37.31 μ g/ml. Antibacterial activity was determined using three bacterial strains (Gram+ and Gram-) according to the disc diffusion assay; all extracts have shown an inhibitory effect against the microorganisms tested. Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) were 100, 20 and 20 μ g/ml for *E.coli*, *S.aureus* and *P.aeruginosa* respectively.

Key word: phenolic content, *Deglet Nour*, *Phoenix dactylifera*, *robb*, antibacterial activity, antioxidant activity.

Résumé

Phoenix dactylifera L. (*Deglet-Nour*) est une plante dont les fruits sont comestibles. Les extraits ont été obtenus par macération des fruits dans des solvants à polarité croissante : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et l'éthanol, les rendements étaient de : 0.03 ,0.14, 11.8 et 16.02 % (m/m). La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de 0.552, 2.492, 339.84 et 381.27mg EAG/100 g de MF dans les extraits chloroformique, acétate d'éthyle et éthanolique (*robb* et dattes) respectivement. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium $AlCl_3$, la teneur est estimée à 0.45, 0.67, 33.39 et 41.76 mg EQ/100 g de MF dans les extraits chloroformique, acétate d'éthyle , éthanolique (*robb* et dattes) respectivement. Le dosage des flavones et flavonols a révélé des teneurs faibles variant entre 0.157 et 24.67 mg EQ/100 g de MF. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de décoloration du β - carotène / acide linoléique en utilisant des concentrations de 2mg/ml pour les quatre extraits et varie entre 33.66 et 55.33% alors que celle du témoin positif BHA est de 55%. Quant au test anti radicalaire évalué en utilisant le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH), les IC_{50} sont estimées à 924 , 715.91 , 64.84 et 55.6 μ g/ml pour les extraits chloroformique, acétate d'éthyle et éthanolique (*robb* et dattes) tandis que celle du BHT est de 37.3 μ g/ml. L'activité antibactérienne a été déterminée sur trois souches bactériennes Gram+ et Gram- selon la méthode de diffusion de disque et tous les extraits ont manifesté un effet inhibiteur sur les microorganismes. Les CMI pour *E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa* sont 100, 20 et 20 μ g/ml respectivement.

Mots clés: Polyphénols, *Deglet Nour*, *Phoenix dactylifera*, *robb*, activité antibactérienne, activité antioxydante.

Abréviations

ac : extrait acétate d'éthyle

AMP : ampicilline

ATCC: American type culture collection.

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluene

°C : Degré Celsius

ch : extrait chloroformique

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CTX: cefotaxime

DMSO: Dimethylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle)

EAG: Equivalent en acide gallique

EQ : Equivalent en quercétine

eth: extrait éthanolique

F.A.O: Food and Agriculture Organisation.

IC₅₀: Inhibitory concentration 50%.

MF : Matière fraîche

MH : Gélose Muller-Hinton

MS : Matière sèche

OFX : ofloxacin

PPT : Polyphénols totaux

R² : Coefficient de corrélation

SP : spiramycine

TE : ticarciline

UV : Ultra violet

Liste des figures

Figure 1 : Datte et noyau du palmier dattier.....	6
Figure 2: Structures chimiques des acides benzoïques.....	19
Figure 3 : Structures chimiques des principaux acides cinnamiques.....	19
Figure 4: Squelette de base des flavonoïdes.....	20
Figure 5 : Famille des flavonoïdes.....	20
Figure 6 : Structure générale d'un tanin hydrolysable.....	23
Figure 7 : Structure chimique des unités monomériques constitutives des tanins Condensés.....	25
Figure 8 : Structure d'un tanin condensé constitué de trois unités catéchiques.....	25
Figure 9 : Pouvoir antioxydant des polyphénols.....	30
Figure 10 : Photographie de la datte entière <i>Deglet-Nour</i> et ses deux tissus Constitutifs.....	33
Figure 11 : Protocole de préparation des extraits de datte.....	36
Figure 12 : Comparaison des rendements des trois extraits (en% du poids frais).....	45
Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	47
Figure 14 : Teneurs en PPT des quatre extraits.....	47
Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.....	50
Figure 16 : Teneurs en flavonoïdes des quatre extraits.....	50
Figure17 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavones et Flavonols.....	51
Figure 18 : Teneurs en flavones et flavonols des quatre extraits.....	51
Figure 19 : Test de décoloration du β - carotène en présence et en absence des extraits.....	53
Figure 20 : Évolution de la décoloration du β -carotène en présence et en absence des différents extraits et du témoin positif BHA	56

Figure 21 : Activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition en présence des extraits et le BHA (après 48h).....	56
Figure 22 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait chloroformique.....	59
Figure23 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait acétate d'éthyle.....	59
Figure24 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique (datte).....	60
Figure25 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique (<i>robb</i>).....	60
Figure 26 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration du BHT.....	61

Liste des tableaux

Tableau I : Nombre de palmiers dattiers en Algérie.....	5
Tableau II : Stades d'évolution de la datte.....	7
Tableau III : Production de dattes par pays en 2004.....	10
Tableau IV : Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fliache Biskra.....	10
Tableau V : Teneur en sucres de quelques variétés algériennes.....	10
Tableau VI : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour, en % de matière grasse.....	14
Tableau VII : Teneur en minéraux et vitamines pour 100 g de pulpe.....	14
Tableau VIII : Teneur en composés phénoliques de quelques variétés de dattes Algériennes.....	14
Tableau IX : Activités biologiques des composés polyphénoliques.....	28
Tableau X : Caractéristiques physique de la datte <i>Deglet-Nour</i>	44
Tableau XI : Valeurs des IC ₅₀ du DPPH pour les extraits.....	57
Tableau XII : Diamètre de zone d'inhibition (en mm) en présence de quelques antibiotiques.....	62
Tableau XIII : Diamètre de zones d'inhibition (en mm) obtenu avec <i>Escherichia coli</i>	65
Tableau XIV : Diametre de zones d'inhibition (en mm) obtenu avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	65
Tableau XV : Diamètres moyens des zones d'inhibition (en mm) obtenus avec <i>Streptococcus aureus</i>	66
Tableau XVI : Concentrations minimales inhibitrices exprimées pour les différents extraits sur les souches testées.....	66

Introduction

INTRODUCTION

Arbre antique et mythique, le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), avec son fruit la datte recèlent des ressources dont l'importance n'est plus à démontrer. Symbole de l'agriculture oasisienne, il est créateur de centre de vie et la source de valeurs inestimables: valeurs économiques, religieuses, morales et écologiques (**Munier, 1973 ; Toutain et al., 1996**).

L'Algérie, avec une production de 516 milles tonnes de dattes (**FAO, 2007**), dispose d'un potentiel phoenicicole important avec son millier de cultivars inventoriés, celui-ci offre par la dominance variétale des dattes communes (80% des cultivars sont rares ou très rares) à côté des cultivars connus et appréciés (20%), un large champs d'investigations pour la recherche fondamentale et la recherche appliquée, aura pour objectif la valorisation de ce patrimoine.

Le fruit étudié dans notre présent travail provient des oasis algériennes.

Ces dernières années ont connu une exploitation appréciable des palmiers, les fruits notamment. Ces derniers suscitent un intérêt de plus en plus croissant aussi bien chez les consommateurs que chez les diététiciens et les nutritionnistes. Ils servent en outre à l'élaboration de produits alimentaires de grandes valeurs énergétiques : miel ; confiture ; sirop, marmelade...etc.

La datte a été depuis des temps immémoriaux un élément très important dans l'alimentation, tant pour les humains (les dattes molles) que pour les animaux (les dattes sèches), cependant divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique de la datte en : sucres, protéines, lipides, fibres et minéraux tandis que les études sur les composés phénoliques restent peu nombreuses.

Maintes activités biologiques ont été attribuées aux composés phénoliques, ces derniers inhibent la peroxydation des lipides, l'agrégation plaquettaire et possèdent un effet antibactérien, antioxydant, antiviral, anti-cancérigène, anti-inflammatoire, antiallergique et vasodilatateur (**Packer, 2001 ; Hurst, 2008**).

Le présent travail porte sur deux parties essentielles.

La première théorique est consacrée à :

- Une étude bibliographique sur le palmier dattier, la datte et de ses constituants, les polyphénols et leur intérêt.

La seconde pratique, dont le but est de :

- estimer la teneur en composés phénoliques totaux des extraits de datte *Deglet-Nour* ainsi qu'en flavonoïdes.
- analyser *in vitro* l'activité biologique des extraits de la datte : l'activité antioxydante et antibactérienne.

Étude bibliographique

Chapitre I
Le palmier dattier

I. Généralités

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* par Linné en 1753. *Phoenix* dérivé de *Phoinix*, nom du dattier chez les grecs de l'antiquité qui le considéraient comme arbre des phéniciens ; *dactylifera* vient du latin *dactylus*, dérivant du grec *dactylos*, signifiant doigt (en raison de la forme du fruit), associé au mot latin *fero*, porté, en référence aux fruits.

II. Position systématique

La plante *Phoenix dactylifera* L. fait partie de la classe des Monocotylédones, d'une famille de plantes tropicales (*Palmoe* ou *Arecaceae*), la mieux connue sur le plan systématique. Elle est représentée par 200 genres et 2700 espèces réparties en six sous familles. La sous famille des Coryphoidées est elle-même subdivisée en trois tribus (Riedacker et al., 1990).

La classification botanique du palmier dattier donnée par Djerbi, (1994) est la suivante:

- Groupe : *Spadiciflores* ;
- Embranchement : *Angiospermes* ;
- Classe : *Monocotylédones* ;
- Ordre : *Palmale* ;
- Famille : *Palmacées* ;
- Sous famille : *Coryphoidées* ;
- Tribu : *Phoenicées* ;
- Genre : *Phoenix* ;
- Espèce : *dactylifera* L.

III. Ecologie

C'est une espèce arborescente connue pour son adaptation aux conditions climatiques très sévères des régions chaudes et sèches (Ghazi et Sahraoui ,2005).

Le dattier est une espèce thermophile ; il exige un climat chaud, sec et ensoleillé. C'est un arbre qui s'adapte à tous les sols. Il est sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (Munier, 1973 ; Toutain, 1979).

Le palmier dattier commence à produire des fruits à un âge moyen de 5 ans, et continue la production avec un taux de 400 à 600Kg /arbre/an pour plus de 60ans (**Imad et al. ,1995**).

IV. Répartition géographique

IV.1. En Algérie

En général les palmeraies algériennes sont localisées au Nord-Est du Sahara au niveau des oasis. Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement, pour une superficie de 120830 hectares, cependant 4 wilayas représentent 83,6% du patrimoine phoenicicole national : Biskra 23%, Adrar22%, El-oued21% et Ouargla 15% (Tab I) (**Anonyme, 2002**).

Notons que sur un nombre de 13,50 millions de plants cultivés, 69,4 % sont productifs.

C'est aussi dans ces régions que sont produites les belles dattes, *Deglet Nour* et autres variétés commerciales: *Ghars, Mech Degla, Degla Baida...* (**Quinten, 1996**).

IV.2. Dans le monde

Le palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne et au Moyen-Orient.

L'Espagne est l'unique pays européen producteur de dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche (**Toutain, 1996**).

Aux Etats-Unis d'Amérique, le palmier dattier fût introduit au XVIII^{ème} siècle. Sa culture n'a débuté réellement que vers les années 1900 avec l'importation des variétés irakiennes (**Bouguedoura, 1991 ; Matallah, 2004**).

Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine et en Australie (**Matallah, 2004**).

Tableau I : Nombre de palmiers dattiers en Algérie d'après (Anonyme, 2002)

wilaya	Deglet-Nour (datte fine)	Ghars (datte molle)	Degla Beida (datte sèche)	Total palmier dattier
Adrar	0	0	2150904	2904150
Laghouat	8470	7650	11580	27 700
Batna	700	3900	21270	25870
Biskra	1 964 460	436 530	748 200	3 149 190
Bechar	5650	0	0	770 030
Tamanrasset	2970	0	0	167 760
Tébessa	49 550	49 550	10 650	68 970
Djelfa	2610	860	210	3 680
M'sila	18 000	0	0	18 000
Ouargla	1092330	783850	193130	2310069
El-Bayedh	0	45 900	0	193130
Illizi	2250	16340	73030	91620
Tindouf	350	24250	0	24600
El-Oued	1 884030	703330	296300	2660883
Khenchla	21 290	44 800	73 70	73460
Naama	0	19600	2600	22 200
Ghardaïa	377 100	154 400	378 900	910 400
total	3559930	1660761	4048710	13 505880

Chapitre II

La datte

I. Définition

La datte, fruit du palmier dattier, est une baie de forme allongée, oblongue ou arrondie. Elle est composée d'un noyau, ayant une consistance dure, entouré de chair (Fig1).

La partie comestible dite chair ou pulpe est constituée de :

- Un péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau.
- Un mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue.
- Un endocarpe de teinte plus clair et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau. (Espiard, 2002).

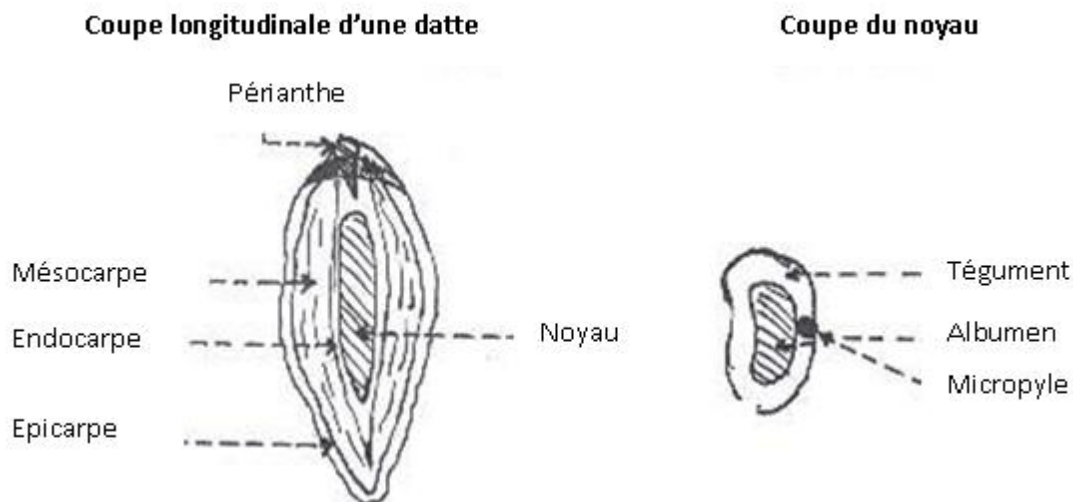


Fig. 1: Datte et noyau du palmier dattier d'après (Belguedj, 2001).

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Sa couleur va de blanc jaunâtre au noir passant par les couleurs ambre, rouges, brunes plus en moins foncées (Djerbi, 1994).

II. Formation et évolution

Les fleurs fécondées, à la nouaison, donnent un fruit qui évolue en taille, en consistance et en couleur jusqu'à la récolte (Gilles, 2000).

La datte passe par différents stades d'évolution (Tab II).

Tableau II : Stades d'évolution de la datte d'après (Djerbi, 1994)

pays	Stades de développement de la datte				
	I	II	III	IV	V
Irak	hababouk	kimiri	khalal	routab	tmar
Algérie	loulou	khalal	besr	martouba	tmar
Libye	-	gameg	besr	routab	tmar
Mauritanie	zei	tafegena	enguei	balh	tmar

De nombreux auteurs ont adapté la terminologie utilisée en Irak. Les différents stades peuvent être définis comme suit (Djerbi, 1994) :

▪**Hababouk** : Ce stade commence juste après la fécondation et dure environ cinq semaines. A ce stade le fruit est entièrement recouvert par le périanthe et se caractérise par une croissance lente.

▪**Kimiri** : Il se caractérise par la couleur verte, un grossissement rapide du fruit, une augmentation de la concentration de tanins et en amidon, une légère augmentation de sucres totaux de la matière sèche. Ce stade dure neuf à quatorze semaines

▪**Khalal** : Au cours de ce stade, la couleur du fruit passe du vert au jaune clair, puis vire au jaune, au rose ou rouge selon les variétés. Cette phase est marquée par une augmentation rapide de la teneur en sucres totaux, de l'acidité active, par contre la teneur en eau diminue. Elle dure trois à cinq semaines.

▪**Routab** : La couleur jaune ou rouge du stade khalal passe au foncée ou au noir. Certaines variétés deviennent verdâtres comme la *khadraoui* (Irak) et la *Bouskri* (Maroc). Ce stade se caractérise par :

- La perte de la turgescence du fruit suite à la diminution de la teneur en eau.
- L'insolubilisation des tanins qui se fixent sous l'épicarpe du fruit.
- L'augmentation de la teneur des monosaccharides.

Ce stade dure de deux à quatre semaines

▪**Tamr** : C'est le stade final de la maturation de la datte. Le fruit perd beaucoup d'eau, ce qui donne un rapport sucre/eau élevé.

III. Les variétés de dattes

Les variétés de dattes sont très nombreuses, seulement quelques unes ont une importance commerciale. Elles se différencient par la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids et les dimensions (**Djerbi, 1994 ; Buelguedj, 2001**).

En Algérie, il existe plus de 940 cultivars de dattes (**Hannachi et al., 1998**). Les principales variétés cultivées sont :

.La Deglet-Nour : Variété commerciale par excellence. C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présente une texture fine légèrement fibreuse (**Boudrar et al., 1997 ; Kendri, 1999**).

.Les variétés communes : Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à *Deglet-Nour*. Les variétés les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla (**Kendri, 1999 ; Masmoudi, 2000**).

IV. Classification

D'après **Espiard (2002)**, la consistance de la datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories :

Les dattes molles : taux d'humidité supérieur ou égal à 30%, elles sont à base de sucres invertis (fructose, glucose) tel que Ghars, Hamraia, Litima.....etc.

Les dattes demi-molles : de 20 à 30% d'humidité, elles occupent une position Intermédiaire à l'exception de la *Deglet-Nour*, datte à base de saccharose par excellence (**Cook et Furr, 1952**).

Les dattes sèches : dures, avec moins de 20% d'humidité, riche en saccharose. Elles ont une texture farineuse telle que Meche-Degla, Degla Beïda.....etc.

V. Production

L'Algérie est l'un des plus importants pays producteurs de la datte avec une production annuelle de $400. 10^3$ tonnes de dattes dont la variété *Deglet-Nour* représente 50%

La Deglet- Nour est une variété commerciale par excellence tandis que les variétés communes sont de moindre importance économique (Ghars, Degla-Bayda.....).

La production mondiale de dattes réalisée en 2007 est de 5,09 millions de tonnes (Tab III) (FAO, 2007).

Quantitativement l'Algérie représente 7% de la production mondiale mais du point de vue qualitatif elle occupe le premier rang grâce à la variété *Deglet-Nour*, la plus appréciée mondialement.

VI. Composition biochimique

VI .1. Composition biochimique de la partie comestible "Pulpe " :

VI.1.1. Constituants majeurs

VI.1.1. 1 L'eau :

La teneur en eau est en fonction des variétés, du stade de maturation et du climat (Tab IV). Elle varie entre 8 et 30 % du poids de la chair fraîche avec une moyenne d'environ 19 % (Noui, 2007).

VI.1.1.2. Les sucres :

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement trois types : saccharose, fructose et glucose (Estanove, 1990; Acourene et Tama, 1997). Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion tels que : le galactose, le xylose et le sorbitol (Favier et al., 1993; Siboukeur, 1997). La teneur en sucres totaux est très variable, elle dépend de la variété et du climat. Elle varie entre 70 et 90 % du poids de la matière sèche (Tab V) (Belguedj, 2001).

Tableau III : Production de datte par pays, en 2004 d'après (FAO, 2007)

pays	Production en quintaux
Egypte	1100000
Irak	910000
Iran	880000
Arabie saoudite	830000
Emirats arabes unis	760000
Pakistan	650000
Algérie	450000
Soudan	330000
Oman	238611
Libye	140000
Tunisie	110000
Maroc	54000
Yémen	33000
Mauritanie	24000
Tchad	18000
U S A	18000
Bahreïn	17000
Qatar	16500

Tableau IV : Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région

Fliache (Biskra), en % d'après (Noui, 2007)

variété	consistance	Teneur en eau
Deglet-Nour	Demi-molle	22.60
Mech-Degla	Sèche	13.70
Ghars	Molle	25.40

Tableau V : Teneur en sucres de quelques variétés algériennes d'après (Belguedj, 2001)

Constituant par rapport à la matière sèche %	Datte molle (Ghars)	Datte demi-molle (Deglet-Nour)	Datte sèche (Mech-Degla)
Sucres totaux	85.28	71.37	80.07
saccharose	80.68	22.81	20.00
Sucre réducteur	04.37	46.11	51.40

VI.1.1.3. Les fibres :

La datte est riche en fibres, elle en apporte 8.1 à 12.7 % du poids sec, (**Al-Shahib et Marshall, 2002**). Selon **Benchabane (1996)**, les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Les dattes fines, comme la *Deglet-Nour*, ne contiennent qu'une faible proportion en cette substance, mais des proportions plus élevées atteignant parfois plus de 10 % dans le cas des dattes communes particulièrement fibreuses (**Munier, 1973**).

VI.1.1.4. Les protéines :

Les dattes présentent des teneurs faibles en composés protidiques, généralement moins de 3% (MS) (**Khallil et al., 2002 ; Besbes et al., 2009**).

La pulpe des variétés algériennes renferme une faible quantité de protéines variant entre 0.38 et 2.5% (**NOUI 2001**).

Favier et al., (1993) ont noté la présence des acides aminés suivants dans la datte:

Isoleucine, Leucine, Lysine, Méthionine, Cystine, Phénylalanine, Tyrosine, Thréonine, Tryptophane, Valine, Arginine, Histidine, Alanine, Acide aspartique, Acide glutamique, Glycocolle, Proline, Sérine.

VI.1.1.5. Les acides gras :

La datte renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 1,9 % du poids frais (**Djouab, 2007**). Cette teneur est en fonction de la variété et du stade de maturation. **Yahiaoui (1998)** a étudié la composition en acides gras qui se trouvent dans la variété *Deglet Nour*, celle-ci est comprise entre 7 et 13% (Tab VI).

VI.1.1.6. Les minéraux :

La caractéristique la plus remarquable des dattes réside dans la présence de minéraux et d'oligoéléments particulièrement abondants dépassant nettement les autres fruits secs (Tab VII). (**Benchelah et Maka, 2008**).

VI.1.1.7. Les vitamines :

La pulpe de dattes contient des vitamines en quantités variables avec les types de dattes et leur provenance. En général, elle contient des caroténoïdes et des vitamines du groupe B en quantités appréciables, mais peu de vitamine C (**Munier, 1973**).

VI.1.1.8. Les composés phénoliques :

La datte renferme des métabolites secondaires dits composés phénoliques. L'analyse qualitative des composés phénoliques de la datte a révélée la présence des acides cinnamiques, des flavones, des flavanones et des flavonols (Tab VIII) (**Mansouri et al., 2005**). Selon **Henk et al., (2003)**, les polyphénols jouent un rôle important dans le corps : ils ont des effets anti-inflammatoires, antioxydants, abaissent la tension artérielle et renforcent le système immunitaire.....etc.

VI.1.1.9. Les enzymes :

Les enzymes jouent un rôle important dans le processus de conversion se produisant pendant le stade de formation et la maturation du fruit.

La qualité de la datte est influencée par l'activité de :

. L'invertase

Responsable de l'inversion du saccharose en fructose et glucose.

. La cellulase

Elle décompose la cellulose en chaines plus courtes.

. La pectinmethylesterase

Elle convertit les substances pectiques insolubles en pectine plus soluble qui ramollit le fruit.

.La polyphenoloxydase

Elle conduit au brunissement du fruit suite à l'oxydation des phénols (**Yahiaoui, 1998**).

VI.1.2. Constituants mineurs :

Bien que 95% des constituants sont cités ci- dessus, il existe d'autres composés sous forme de traces tels que :

-les acides organiques : l'acide citrique, l'acide malique.....

-les substances volatiles : l'éthanol, l'isobutanol, l'isopentanol.

Les pigments : les caroténoïdes, la chlorophylle..... (**Benchabane, 1996**).

VI.2 Composition biochimique de la partie non comestible "Noyau "

Le noyau présente 7 à 30 % du poids de la datte. Il est composé d'un albumen blanc, dur et corné protégé par une enveloppe cellulosique (**Espiard, 2002**).

Les travaux de recherche menés sur la composition des noyaux de certaines variétés de datte d'Arabie Saoudite ont démontré la présence de protéines, de glucides, de lipides, et de minéraux (K, P, Ca, Na, Fe, Mn, Zn, Cu).

En plus des protéines, le noyau contient des acides gras tels que l'acide oléique, palmique, laurique, linoléique et palmitique mis en évidence dans l'huile extraite des graines (**Al Houti et al., 1998**).

Tableau VI : Composition en acides gras de la datte *Deglet-Nour*, en % de matière grasse d'après (Yahiaoui, 1998)

Acides gras	Teneur en% de matière grasse
Acide linoléique (C ₁₈ : 3)	12.30
Acide linoléique (C ₁₈ : 2)	11.47
Acide oléique (C ₁₈ :1)	10.74
Acide stéarique (C ₁₈ : 0)	10.47
Acide palmitique (C ₁₆ : 0)	7.89
Acide myristique (C ₁₄ : 0)	8.66

Tableau VII : Teneur en minéraux et vitamines pour 100 g de pulpe d'après (Benchelah et Maka, 2008).

Minéraux (mg)		Vitamines (mg)	
Potassium	670 à 750	B3	1.7
Calcium	62 à 65	B5	0.8
Magnésium	58 à 68	B2	0.10
Fer	3	B6	1.15
Phosphore	3	PP	0.03
Cuivre	3	Vitamine C	présente en faible quantité
Zinc	3	Folates (B9)	28,00 . 10 ⁻³
Manganèse	3		
Sodium	1 a 3		

Tableau VIII : Teneur en composés phénoliques de quelques variétés de dattes Algériennes d'après (Mansouri et al., 2005)

Variétés	Teneur en mg / 100 g du poids frais
Tazizaout	2,49
Ougherouss	2 ,84
Akerbouche	3,55
Tazarzait	3,91
Tafiziouine	4,59
Deglet-Nour	6,73
Tantbouchte	8,36

VII. Transformation de la datte

VII.1. Confiseries à base de datte.

- La pâte de datte

Les dattes molles ou ramollies par humidification donnent lieu à la production de pâte de dattes. La fabrication est faite mécaniquement. Lorsque le produit est trop humide, il est possible d'ajouter la pulpe de noix de coco ou la farine d'amande douce. La pâte de datte est utilisée en biscuiterie et en pâtisserie (**Espiard, 2002**).

- La farine de datte

Elle est préparée à partir de dattes sèches ou susceptibles de le devenir après dessiccation. Riche en sucre, cette farine est utilisée en biscuiterie, pâtisserie, aliments pour enfants (**Aït-Ameur, 2001**) et yaourt (**Benamara et al., 2004**).

- Les Sirops, les crèmes et les confitures de dattes

Ces produits sont également fabriqués à base de dattes saines car il est important d'éviter tout arrière goût de fermentation. Selon **Espiard (2002)**, cette gamme de produit est basée sur l'extraction des sucres par diffusion de ces derniers et des autres composants solubles de la datte. Par mélange et cuisson de pâte ou de morceaux de dattes et de sirop, nous pouvons obtenir des crèmes ou des confitures d'excellente qualité.

VII.2. La mise en valeur des déchets

Les dattes abîmées et de faible valeur marchande peuvent être utilisées en raison de leur forte teneur en sucre pour la production de :

- La biomasse et protéines unicellulaires

La production de protéines reste un objet essentiel afin de subvenir aux besoins mondiaux. A cet égard des essais de production de protéines d'organismes unicellulaires par culture de la levure *Saccharomyces cerevisiae* sur un milieu à base de dattes ont été réalisés.

- Les alcools

Les dattes constituent un substrat de choix pour la production de l'alcool éthylique. Selon **Touzi (1997)**, l'alcool éthylique a été produit au laboratoire avec un rendement de 87 %.

- Le vinaigre

Les dattes peuvent être utilisées pour l'élaboration de nombreux produits alimentaires parmi lesquels le vinaigre (**Ould El Hadj et al., 2001**). Ce dernier a été produit par culture de la levure *Saccharomyces uvarum* sur un extrait de datte (**Boughnou, 1988**).

- Les aliments de bétail

Les rebuts et les noyaux de dattes constituent des sous produits intéressants pour l'alimentation du bétail. La farine des noyaux de dattes peut être incorporée avec un taux de 10 % dans l'alimentation des poulets sans influencer négativement leurs performances (**Gualtieri et Rappaccini, 1994**).

- Autres produits

La datte constitue un substrat de choix pour la production de nombreux autres produits tels que : le vin (**Espiard, 2002**) et le jus de datte (**Siboukeur, 1997**).

VIII. Usage médicinal des dattes

Riches en fibres, les dattes facilitent le transit intestinal et exercent un rôle préventif des cancers colorectaux, des appendicites, de la diverticulose, des varices et des hémorroïdes. Ils ont également un effet hypocholestérolémiant (**Albert, 1998 ; Jaccot et Campillo, 2003**). Energétique et riche en minéraux, le fruit permet de lutter contre l'anémie et les déminéralisations, il est donc recommandé aux femmes qui allaitent. Les dattes pilées dans de l'eau soignent les hémorroïdes, les constipations et aussi l'ictère (jaunisse). Quant aux diarrhées, elles sont traitées par les dattes vertes tonifiantes. Calmantes sous forme de sirop très concentré, le *robb*, cette préparation apaise et endort les enfants. Elle est aussi utilisée pour les maladies nerveuses et dans les affections broncho-pulmonaires. En décoction ou en infusion, les dattes traitent les rhumes. En gargarisme, elles soignent les maux de gorge (**Benchelah et Maka, 2008**).

Chapitre III

Les composés phénoliques

I. Généralités

Les composés phénoliques également dénommés les polyphénols, sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Lebham, 2005**), ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction (**Guignard, 2001**).

Ils constituent un des groupes les plus abondants dans le royaume végétal avec plus de 8000 structures résultant biogénitiquement de deux voies de synthèses principales : la voie shikimate et acétate (**Lugasi et al., 2003**).

Les polyphénols sont des composés organiques possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques, auxquels sont directement liés un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une fonction ester, éther ou hétéroside (**Bruneton, 1993**).

La fonction principale attribuée à ces composés chez les végétaux est la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations (**Lebham, 2005**).

II. Classification des composés phénoliques

Il existe différentes classes de polyphénols, **Calabrese (2003)** les a classés comme suit :

- Les acides phénoliques ;
- Les acides hydroxycinnamiques ;
- Les flavonoïdes ;
- Les tanins ;

II.1. Les acides phénoliques

On englobe sous la dénomination générale d'acides phénoliques, les acides benzoïques en C₆- C₁, d'une part et les acides cinnamiques en C₆- C₃ d'autre part (**Cheyrier, 2005**).

II.1.1. Les acides benzoïques

Les acides benzoïques ont une structure générale de C₆-C₁, les variations de structures de différents acides benzoïques se situent dans l'hydroxylation et la méthylation du noyau aromatique (**Häkkinen, 2000**). Ils peuvent être présent sous forme de combinaisons avec des

sucres ou des acides organiques généralement de type ester, dont ils sont libérés par hydrolyse alcaline (Fig 2) (**Ribéreau-Gayon, 1972**).

II.1.2. Les acides cinnamiques

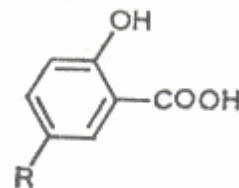
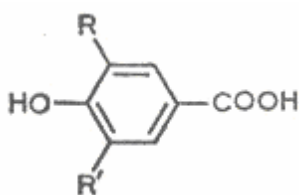
Les acides cinnamiques ont une structure générale de C₆-C₃, les plus répandus chez les végétaux sont l'acide *p*-coumarique (1), caféique (2), férulique (3) et sinapique (4) (Fig.3) (**Macheix, 1990 ; Häkkinen, 2000**). On rencontre au moins un d'entre ces quatre acides, dans pratiquement tous les végétaux supérieurs.

II.2. Les flavonoïdes

Du latin *flavus*, jaune, sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux : on les trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituant des plastes particuliers, les chromoplastes (**Guignard, 2001**).

Leur biosynthèse s'effectuerait à partir d'un acide aminé, la phénylalanine (**Morelle, 2003 ; Nacz, 2006**).elles seraient de plus de 5000 dérivés flavonoïdes et leurs activités antioxydantes sont très différentes.

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques en C₆ (A et B) relié par une chaîne en C₃ (Fig.4) (**Bruneton, 1993**). De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses (**Meddleton et Kardasnam, 1993**). La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavonols, flavones, flavanes, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Fig5) (**Medic et al., 2004**).



(1) $R = R' = H$; acide *p*-hydroxybenzoïque

(2) $R = OH, R' = H$; acide protocatéchique

(3) $R = OCH_3, R' = H$; acide vanillique (3)

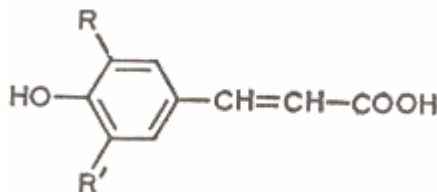
(4) $R = R' = OH$; acide gallique

(5) $R = R' = OCH_3$; acide syringique

(1') $R = H$; acide salicylique (acide *o*-hydroxybenzoïque)

(2') $R = OH$; acide gentisique

Fig. 2: Structures chimiques des acides benzoïques d'après (Ribéraeu-Gayon, 1968)



(1) $R = R' = H$; acide *p*-coumarique (2) $R = OH, R' = H$; acide caféique

(3) $R = OCH_3, R' = H$; acide férulique (4) $R = R' = OCH_3$; acide sinapique

Fig. 3 : Structures chimiques des principaux acides cinnamiques d'après (Ribéraeu-Gayon, 1968 ; Häkkinen, 2000)

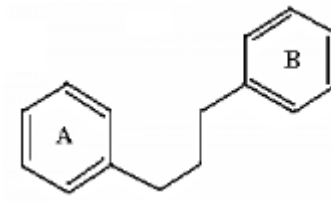


Fig. 4 : Squelette de base des flavonoïdes d'après (Dean, 1963)

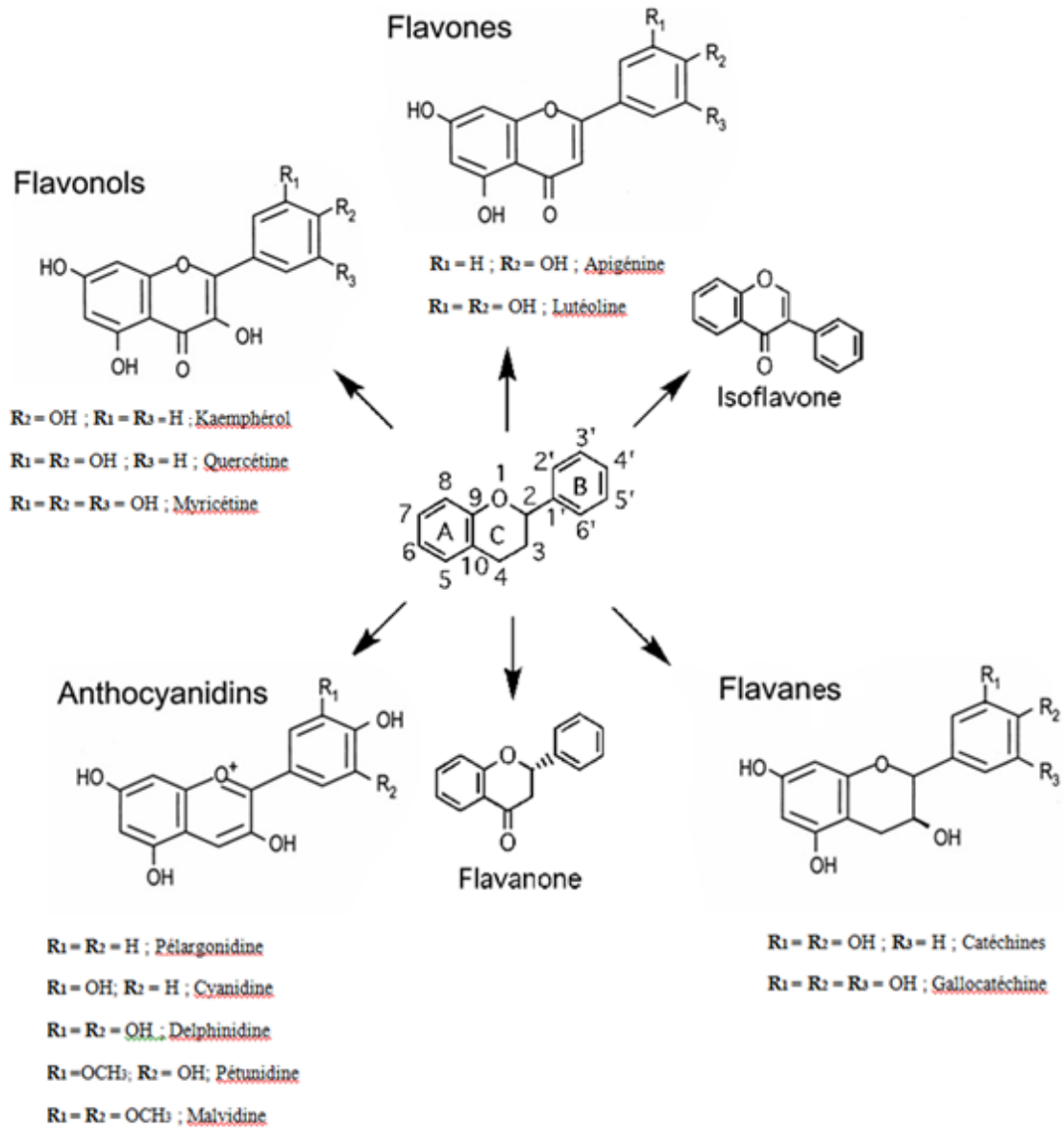


Fig. 5 : Famille des flavonoïdes d'après (Manach et al., 2004).

II.2.1. Les flavonols (hydroxy-3-flavone)

Les flavonols se différencient des flavones par l'existence d'un OH en position 3. Ce sont les flavonoïdes les plus répandus ; les trois principales structures sont le kaempferol, la quercétine et la myricétine. La quercétine est sans doute le composé phénolique le plus répandu dans la nature (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

II.2.2. Les flavones

Les flavones proprement dites ont un rôle moins important que les flavonols ; cependant l'apigénine et la lutéoline, dont l'hydroxylation correspond respectivement à celle du kaempferol et la quercétine, sont des constituants assez fréquents dans les différentes familles d'Angiospermes (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

II.2.3. Les isoflavones

Les isoflavones telle que la génistéine n'ont pas la structure classique en C₆-C₃-C₆ des autres flavonoïdes ; elles sont beaucoup moins répandues que les précédentes, mais il existe dans cette famille un grand nombre de structures peu classiques (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

II.2.4. Les flavanones

Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3, et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie, il faut ranger les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, citrons, orange: la naringénine , l'hespéridine et l'eridictyol. (**Alais et Linden, 1997**).

II.2.5. Les flavanes

Les flavanes contiennent un hétérocycle central, dont, d'une part est entièrement saturée, d'autre part ne possède pas de groupement -CO- ; on rencontre fréquemment dans les tissus végétaux des flavanols (catéchine) et surtout des flavane-di-ols³⁻⁴(ou leuconthocyanidines) qui interviennent dans la constitution des tanins condensés. Les flavanes les plus importants sont les catéchines et les gallocatéchines, la leucocyanidine et la leucodélfidine.

Les flavanes se différencient des autres composés phénoliques en ce sens qu'elles existent dans la nature sous forme d'aglycones, le plus souvent polymérisés, alors que les flavones, flavonols et composés voisins sont toujours sous forme hétérosidique.

II.2.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (**Guignard, 1996**). Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (**Harbone, 1967; Brouillard, 1986**).

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C₃ (**Ribereau, 1968**). Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment.

II.3. Les tanins

Le mot tanin a été utilisé pour la première fois par Seguin en 1779 pour désigner les constituants chimiques de la noix de galle qui est capable de transformer la peau fraîche en cuir imputrescible et peu perméable (**Ribéreau-Gayon, 1968**). Du point de vue chimique, les tanins résultent de la polymérisation de molécules élémentaires à fonction phénol.

Les tanins sont divisés en deux groupes :

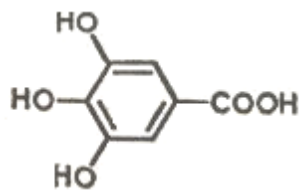
- Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose ;
- Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères) ;

II.3.1. Les tanins hydrosolubles

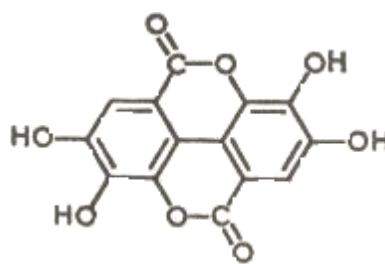
Ce sont des esters de glucose (ou des molécules apparentées) et d'acides phénols qui sont :

- soit d'acide gallique, on parle alors de tanins galliques.
- soit d'acide ellagique, qui est un dimère, on parle alors de tanins ellagiques.

Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide gallique ou ellagique (Fig6).



Acide gallique



Acide ellagique

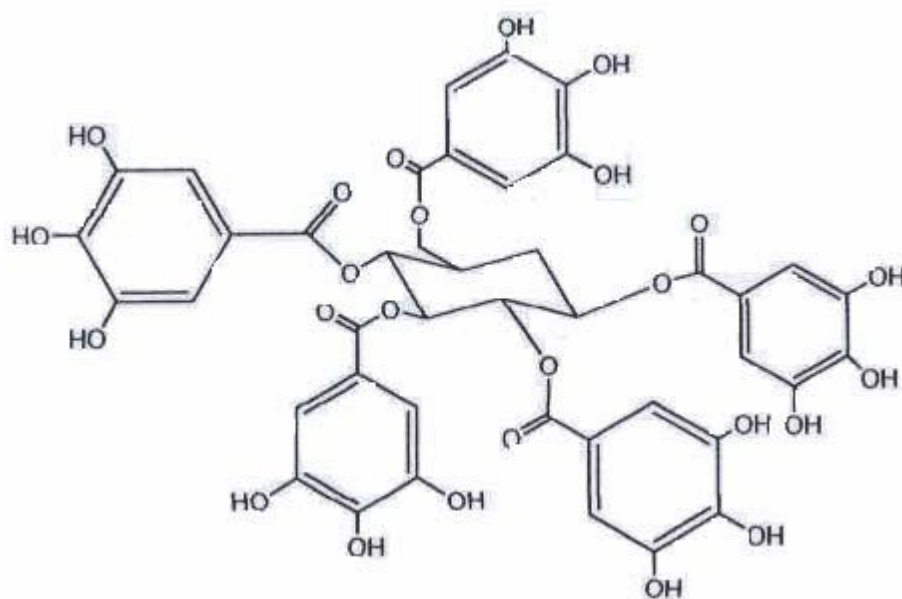
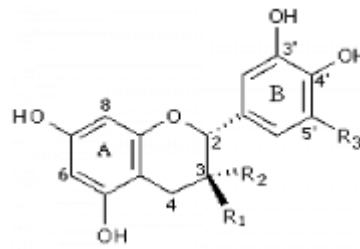


Fig. 6 : Structure générale d'un tanin hydrolysable.

II.3.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés, appelés aussi les proanthocyanidines sont des polymères formés d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**). Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétrique C₂ et C₃ et par le niveau d'hydroxylation du noyau B (Fig7). On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées).

Les polymères de ces tanins se forment sous l'action d'acides ou d'enzymes, ils sont constitués généralement de 2 à 50 unités monomériques (Fig8), (**Vermerris et Nicholson, 2006**).



flavanol	R ₃	R ₁	R ₂
(+)-catechine	H	OH	H
(-)-epicatechine	H	H	OH
(+)-Gallocatechine	OH	OH	H
(-)-epigallocatechine	OH	H	OH

Fig. 7 : Structure chimique des unités monomériques constitutives des tanins condensés d'après (Perret, 2001).

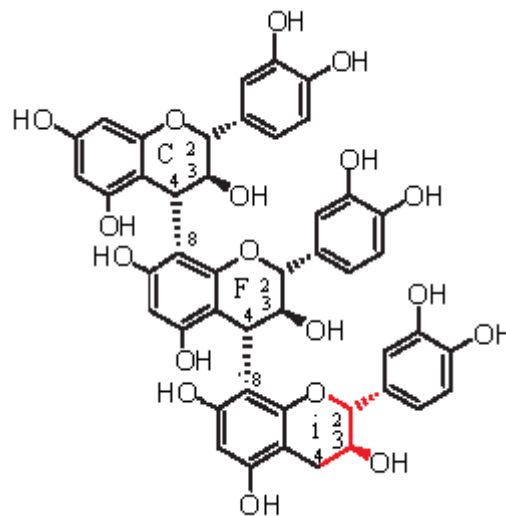


Fig. 8 : Structure d'un tanin condensé constitué de trois unités catéchiques d'après (Vergé et al., 1999).

Chapitre IV

Intérêt des composés chimiques

I. Rôle physiologique

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaires, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation (**Alibert et al., 1977**).

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques de feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV (**Hadi, 2004**).

Ils sont impliqués dans la réaction de défense du palmier dattier contre le *bayoud*, maladie infectieuse due a un champignon telle que *Fusarium oxysporum* (**Daayf et al., 2003**).

II. Rôle technologique

Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent a la coloration des fruits murs, ils confèrent aux fruits et légumes leurs teinte rouge ou bleuté, ils sont aussi responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de leurs teneurs (**Lugasi et al., 2003**).

III. Rôle nutritionnel et thérapeutique

Les apports journaliers en antioxydants non nutriments sont variables en fonction du type d'alimentation. Certains auteurs avancent des apports alimentaires journaliers en composés phénoliques chez l'homme compris entre 100 et 1000 mg. (**Roberfroid, 2002 ; Scalbert et al., 2000**).

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments, certain d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines (avec les quelles les tanins se combinent), ...etc. Les décès dus au infarctus du myocarde ou par athérosclérose coronarienne sont à associés au taux élevé des cholestérols du type LDL (Low density Lipoprotéines) circulant dans le sang. Des études ont démontré qu'une consommation importante d'antioxydants phénoliques (vitamine E, quercétine...) pouvaient être corrélée avec une baisse significative des décès par athérosclérose, en diminuant l'oxydation des LDL (Tab IX) (**Frankel et al., 1995**).

Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumons, peau, vessie,...etc.) à tous les stades de cancérogénèse. Au stade d'initiation, ils agissent comme agent bloquant en empêchant l'activation de pro carcinogène. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agent suppresseur de tumeurs. Les mécanismes impliqués peuvent la encore être très variés: prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose et l'inhibition de l'angiogénèse.

Les polyphénols pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormonodépendantes telle que l'ostéoporose en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes (**Scalbert et Williamson, 2000**). Enfin, les composés phénoliques et en particulier, l'acide salicylique (acide hydroxy benzoïque) ont également des propriétés antiseptiques (**Ribereau, 1964**).

Tableau IX: Activités biologiques des composés polyphénoliques d'après (Frankel et al., 1995).

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acides phénols (cinnamique et benzoïque)	Antibactériens	Didry et al., 1982
	Antifongiques	Ravn et al., 1984
	Antioxydants	Hayase et Kato, 1984
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses	Mabry et Ulubelen, 1980
Flavonoïdes	Antitumorales	Stavric ., 1992
	Anticarcinogènes	Das et al., 1994
	Anti- inflammatoires	Bidet et al., 1987
	Hypotenseurs et diurétiques	Bruneton, 1993
	Antioxydants	Aruoma et al., 1995
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires	Bruneton, 1993
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène	Masquelier et al., 1979
	Antioxydants	Bahorun et al., 1996
	Antitumorales	DE Oliveir et al. 1972
	Antifongiques	DE Oliveir et al. 1972
	Anti-inflammatoires	Brownlee et al., 1992
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants	Okuda et al., 1983 Okamura et al., 1993

IV .Rôle antioxydant

Doués d'une forte réactivité, les radicaux libres sont des entités chimiques possédant un électron non apparié (célibataire) sur la couche externe, Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, autres radicaux libres, dits radicaux secondaires [Radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$), Radical alkoxyde ($\text{RO}\cdot$)], se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli, 1997**).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (**ROS**). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit [radical superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$), radical hydroxyl ($\text{OH}\cdot$), monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$)], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxyde d'azote (ONOO^-)] (**Dacosta, 2003 ; Favier, 2003**) dont il existe deux sources, la première dite endogène, ou les radicaux proviennent des réactions enzymatiques tels que NADPH oxydase, la lipoxigénase et la xanthine oxydase, la deuxième exogène comme la pollution, l'alcool, le tabagisme et l'exposition prolongée au soleil (**Hadi, 2004**).

Pour neutraliser les radicaux libres, on fait appel à des produits naturels ou synthétiques dits antioxydants (Tab IX) dont la source est :

*Endogène :

La défense enzymatique contre les ROS est assurée par les enzymes SOD (superoxyde dismutase), la catalase et la glutathion peroxydase.

*Exogène

a- L'alimentation

- les fruits et légumes qui composent notre alimentation sont riches en antioxydants comme la vitamine E et C, le β - carotène et les composés phénoliques.

b- les médicaments : ces agents thérapeutiques ont des propriétés antioxydantes comme les antihypertenseurs, les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les bêta bloquants (**Aouissa, 2002**).

Les polyphénols neutralisent les radicaux libres vecteurs de stress oxydatif responsable de la détérioration et du vieillissement cellulaire qui est à l'origine de l'Alzheimer, le Parkinson, l'athérosclérose, la polyarthrite chronique ou encore le cancer (Aouissa, 2002).

Le mécanisme global de cette réaction est schématisé dans la figure suivante :

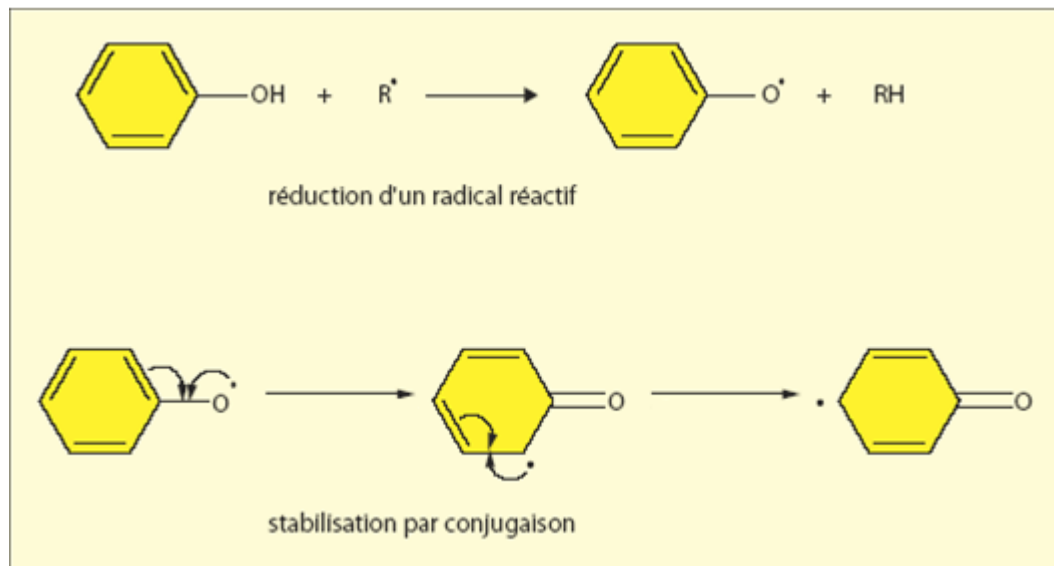
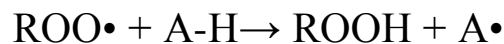
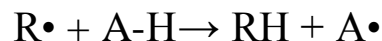
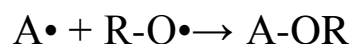
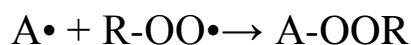
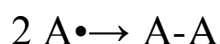


Fig. 9 : Pouvoir antioxydant des polyphénols d'après (Rolland, 2004)

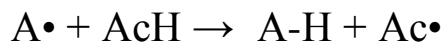
Dans le cas particulier des lipides, les polyphénols (A-H) réagissent avec un radical libre lipidique pour le convertir soit en acide gras de départ R-H soit en hydro peroxyde R-OOH ou en dérivé hydroxy lipidique de type R-OH. Simultanément, un radical A• issu de l'antioxydant est formé. Celui-ci est plus stable que le radical lipidique.



En règle générale, les formes radicalaires de l'antioxydant peuvent soit subir des réactions de réarrangement interne, soit réagir entre elles pour donner des dimères ou encore réagir avec un second radical lipidique pour stopper la chaîne radicalaire.



De plus, le radical phénolique A• peut être régénéré par un synergisant comme l'acide citrique (AcH), qui en plus, est un chélateur des métaux, largement utilisé en technologie des corps gras (**Rolland,2004**).



V. Rôle antimicrobien

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* sont focalisées pour l'évaluation des propriétés antibactériennes, et antifongiques des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales.

L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne était étudiée par **Katarzyna et al (2007)** qui ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*...) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*...).

Moroh et al (2008), ont démontré l'effet antibactérien des extraits acétiques riches en alcaloïdes et en flavonoïdes de *Morinda morindoides*, sur 8 souches d'*Escherichia coli*, germes de la flore intestinale. Des flavonoïdes, une flavone et une flavanone, respectivement isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montrés comme possédant l'activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans* (**Valsaraj et al., 1997 ; Wachter 1999**). Deux autres flavones isolés de la plante *Artemisia girdaldi* ont été rapportés exhiber une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus* une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs. Dans une autre étude **Belhattab et al (2004)** ont démontré un effet antifongique de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sur des dermatophytes.

Des travaux ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Récemment, des chercheurs ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV, empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte (**Mahmood et al., 1993**).

Le mécanisme d'action des polyphénols sur ces agents pathogènes n'est pas bien connu, les études exploitées par **Dominico et al (2005)** ont mené à conclure que l'effet antimicrobien des produits polyphénoliques est dû partiellement à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des microorganismes, qui en résulte une

altération de la perméabilité de la membrane et la perte (fuite) de ses organites intracellulaires, en plus des caractéristiques physicochimiques des composés polyphénoliques (la solubilité dans l'eau et la lipophilie) peuvent influencer cet effet antibactérien.

Partie expérimentale

Chapitre V

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal

I.1. Choix de la variété

Le matériel utilisé dans cette étude est *Deglet-Nour*, elle est très répandue dans les palmeraies du Sud-Est de l'Algérie et plus exactement à Tolga (Biskra).

La datte *Deglet-Nour* d'un goût parfumé, est de forme fuselée ou ovoïde. À maturité, la datte est plutôt beige marron, l'épicarpe est lisse et brillant, le mésocarpe est très peu charnu de consistance demi-molle et de texture fibreuse.

Le choix de cette variété est justifié par sa qualité gustative, sa disponibilité sur le marché et sa large consommation (elle constitue 53,9% de la production nationale).



Fig. 10 : Photographie de la datte entière *Deglet-Nour* et ses deux tissus constitutifs

I.2. Obtention et conservation des échantillons

La méthode d'échantillonnage suivie est celle préconisée par **Girard (1965)**, nous avons subdivisé la palmeraie en différentes parcelles. Dans chaque parcelle, la récolte est réalisée sur quatre à cinq palmiers homogènes. Les fruits sont prélevés au hasard sur plusieurs régimes à diverses hauteurs et orientations.

Les dattes sont récoltées à pleine maturité (Tmar) et conservées à 4°C.

I.3. Appareils et réactifs utilisés

Balance de précision (Kern)

Evaporateur rotatif (Büchi)

Oscillateur (Prolabo)

Spectrophotomètre type Spectronic 20 Genysis TM.

Acide gallique (Sigma)

Acide linoléique (Merck)

β carotène (Sigma)

DPPH (Sigma)

Quercétine (Sigma)

Tween 40 (Sigma)

Les souches utilisées

- Bactérie Gram-: *Escherichia coli* ATCC 25922;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853;
- Bactérie Gram +: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;

II. Méthodes d'analyses

II.1. Caractérisation morphologique de la datte entière

Les analyses qui suivent ont été réalisées sur un lot prélevé aléatoirement.

.La couleur a été appréciée visuellement ;

.La consistance : au toucher ;

.Les dimensions du fruit entier et son noyau (longueur et largeur) sont déterminées par le biais d'un pied à coulisse ;

.Le poids (pulpe et noyau) est déterminé à l'aide d'une balance analytique.

II.2. Préparation des extraits

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le principe consiste en ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion (**Ribereau-Gayon, 1968**). On a utilisé trois solvants à polarité croissante dans cette présente étude : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et l'éthanol.

Ceux-ci possèdent l'avantage d'être facilement éliminés par évaporation.

.Mode opératoire

A 100 g de pulpe de datte broyées a été ajouté 100 ml de chloroforme ; cette préparation a été mise sous agitation pendant 6 heures, laissée macérer toute la nuit ; puis filtrée sur papier filtre (Wattman N°1) ; l'opération est répétée deux fois.

L'extraction à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol s'effectue de la même manière (Fig.11). Un quatrième extrait est préparé à partir du sirop de datte (*robb*) en suivant la même procédure avec l'éthanol seulement.

Les extraits ont été concentrés sous vide en éliminant les solvants par évaporateur rotatif et conservés à 4⁰C jusqu'à utilisation.

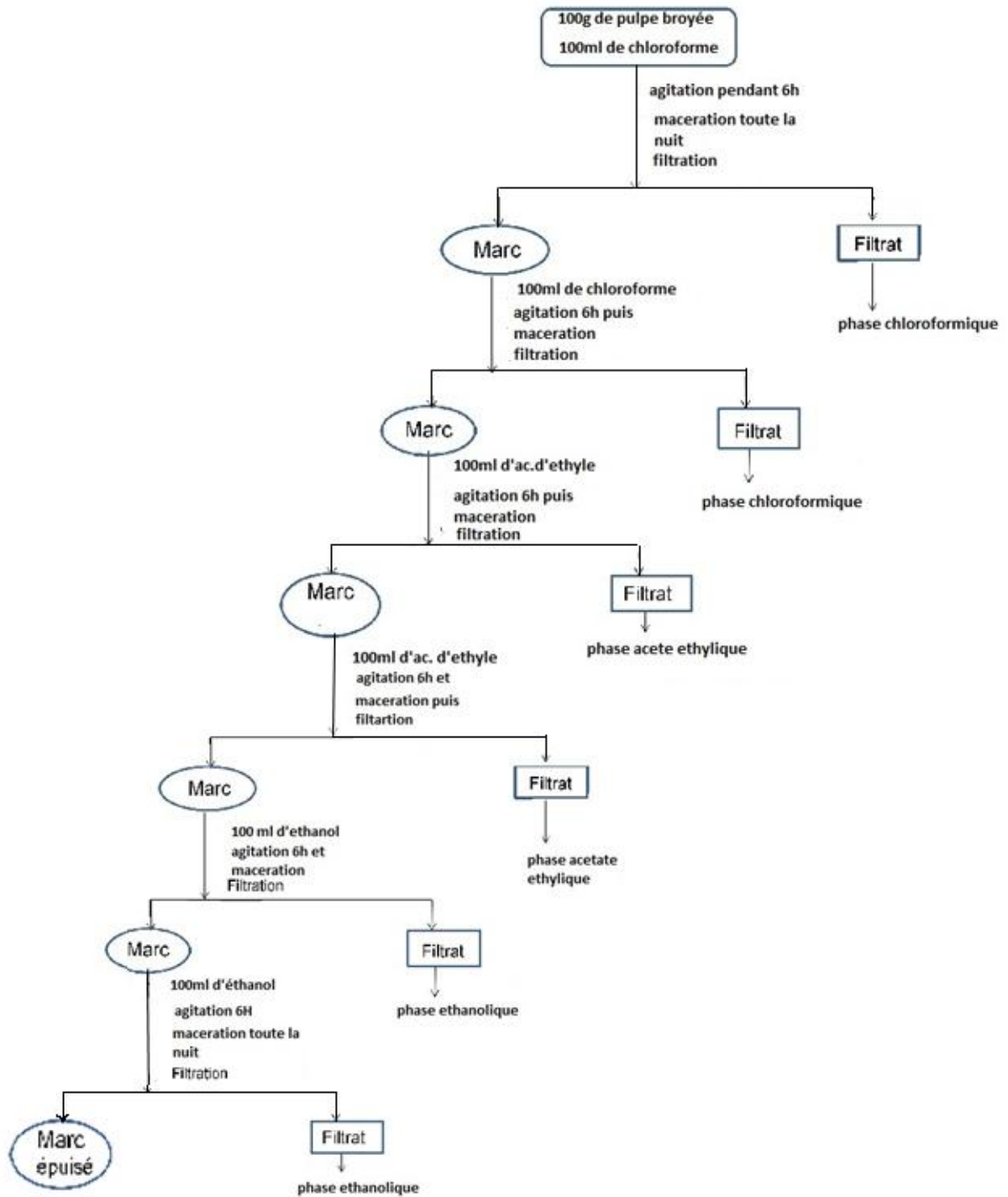


Fig. 11 : Protocole de préparation des extraits de datte.

II.3. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et al. (1999)**.

□ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), (**Ribéreau-Gayon, 1972**).

Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

□ Mode opératoire

Mettre 20 μ l de chaque extrait de datte dans des tubes à essais ; ajouter 1.58ml d'eau distillée et 100 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu' dilué dans H_2O distillée (v/v) dans chaque tube ; agiter vigoureusement puis laisser agir 6 min avant d'ajouter 300 μ l de carbonate de sodium à 7.5%.

Après incubation de 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 760 nm.

On effectue la même opération pour l'acide gallique à différentes concentrations en introduisant 20 μ l de ces dernières dans une série de tubes et ajout des autres réactifs.

Le blanc est représenté par l'éthanol additionné du Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium .

Toutes les mesures sont réalisées en duplicata.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits de dattes sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique/ 100 g de MF.

II.4. Détermination de la teneur en flavonoïdes

II.4.1 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

□ Principe

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de dattes est réalisée par la méthode de **Bahorun et al. (1996)**. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (**Boulekbache, 2005**). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

□ Mode opératoire

Mettre 1ml d'extrait de dattes dans un tube à essai ; Ajouter 1 ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2 % ; laisser incuber 15 min à température ambiante. Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 430 nm.

On effectue la même opération pour la quercétine à différentes concentrations en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d'AlCl₃ à 2%.

Le blanc est représenté par l'éthanol additionné à l'AlCl₃.

Toutes les opérations sont réalisées en duplicata.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de dattes sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/ 100 g de MF.

II.4.2. Dosage des flavones et flavonols

La méthode utilisée pour l'estimation de taux de flavonols est celle décrite par (**Kosalek et al., 2004**).

□ Mode opératoire

Mettre 0.50 ml d'extrait de dattes dans un tube à essai ; ajouter 1.5 ml d'éthanol, 0.1 ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 10% puis 0.1 ml d'acétate de sodium et 2.8 ml d'eau, laisser incuber 30 min à température ambiante.

Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 415 nm.

Répéter les opérations en duplicata.

La concentration des flavones et flavonols contenus dans les extraits de dattes est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/ 100 g de MF.

II.5. Activité antioxydante et antiradicalaire

II.5.1. Mise en évidence de l'activité antioxydante par la méthode du β - carotène

Ce test est une mise en évidence de l'activité antioxydante des extraits de datte envers l'acide linoléique, le β carotène est attaqué par ce dernier et perd sa coloration qui était orange initialement (**Belhattab, 2007**).

En présence d'un antioxydant fort, il y a inhibition de la décoloration (**Graven et al., 1992**).

□ Mode opératoire

Préparer le milieu gélosé, dans un bécher, en dissolvant 1.5 g d'agar dans 100 ml d'eau distillée ; chauffer en agitant sur une plaque chauffante. Laisser refroidir jusqu'à environ 50°C, y transvaser 10ml d'une solution de β -carotène (2mg/ml d'acétone) et d'acide linoléique (2 μ g/ml d'éthanol) ; couler dans des boites Pétri ; laisser solidifier puis creuser des puits et y verser 20 μ l de chaque extrait (1mg/ml). Laisser incuber 3 à 4 h à 45°C.

Dans des boites témoins les extraits sont remplacés par le BHA (témoins positifs), le chloroforme, l'acétate d'éthyle et l'éthanol (témoins négatifs).

Une zone de rétention de couleur orange autour des puits indique l'activité antioxydante des extraits.

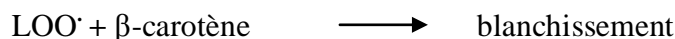
II.5.1.1 Test de blanchissement du β - carotene (the bleaching test)

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antioxydante en utilisant le système β -carotène-acide-linoléique est décrite par **Wanasundara et al. (1994)**.

□ Principe

L'acide linoléique peroxydé en présence de l'oxygène se transformant en radical peroxy LOO^\cdot attaque le β -carotène qui est un antioxydant lipophile qui protège les acides gras de l'oxydation et diminue sa couleur orange, l'ajout d'un deuxième antioxydant AH

engendre une compétition avec le β -carotène et neutralisation du radical qui se transforme en hydroperoxyde LOOH et (**Goupy et al ., 1999**) .



□ Mode opératoire

Dissoudre 2 mg de β - carotène dans 10 ml de chloroforme. Prendre 1 ml de cette solution et la verser dans un ballon contenant 20 μl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 , concentrer sous vide a 40 °C à l'aide d'évaporateur rotatif , ajouter 50ml d'eau saturée en oxygène tout en agitant jusqu'à obtention d'une émulsion . Prendre 5 ml de l'émulsion préparée et la verser dans des tubes a essais contenant 500 μl de chaque extrait à 2mg/ml ; un tube contenant 5ml d'émulsion et 500 μl d'éthanol servira de témoin négatif.

Refaire les mêmes étapes en remplaçant les extraits par le BHA à 2mg/ml.

Toutes les mesures sont réalisées en duplicata.

Lire les absorbances à 470 nm ;

Relire les absorbances après incubation à température ambiante jusqu'à disparition de la couleur du β - carotène déterminée visuellement (environ 72h).

Toutes les mesures sont réalisées en duplicata.

L'activité antioxydante (inhibition%) est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inibition\%} = \frac{A_t}{A_{t=\text{zéro}}}$$

Où A_t est l'absorbance des extraits après incubation.

$A_{t=\text{zéro}}$: absorbance des extraits avant incubation.

II.5.2. Test antiradicalaire (test DPPH)

□ Principe

L'activité antiradicalaire est évaluée par la méthode de **Braca (2002)**.

Le DPPH est un radical libre, de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H.



Où **AH** est un composé capable de céder un H au radical DPPH.

□ Mode opératoire

Préparer des dilutions de chaque extrait à partir de la solution mère de 200µg/ml ;

Mettre 1ml de chaque dilution dans un tube à essai, ajouter 1ml de solution méthanolique de DPPH à 0.004% et laisser incuber 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante.

Lire l'absorbance à 517 nm ;

Ajuster le blanc avec du méthanol pur.

Mener les mêmes opérations pour le control et le standard en remplaçant l'extrait de datte par du méthanol pur et des solutions méthanoliques de BHT à 200 mg/ ml respectivement.

Répéter les opérations en duplicata.

Expression des résultats

L'évaluation de l'activité antiradicalaire en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante

$$\text{inhibition}\% = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_t}{\text{Abs}_t} \right) \times 100$$

Où $\text{Abs}_{\text{control}}$, Abs_t) sont les absorbances du control et des extraits respectivement.

L'efficacité anti radicalaire est calculée comme suit :

$$\text{EA} = 1/\text{IC}_{50}$$

Où l'IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

II.6. Etude de l'activité antibactérienne**II.6.1. Préparation des milieux de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton (Annexe II) préparé comme suit :

-dissoudre 38g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée.

-faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète.

-Autoclaver pendant 15 minutes à 121°C.

- couler dans les boîtes de Pétri.

II.6.2. Souches utilisées

Les souches utilisées sont des souches de référence American type culture collection (ATCC), obtenues du laboratoire de microbiologie du centre hospitalier- universitaire (CHU) de Batna et conservées dans des tubes à essais contenant de la gélose inclinée.

II.6.3. Stérilisation du matériel

On stérilise à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes :

L'eau distillée et les milieux de cultures.

On stérilise à l'étuve pendant 15 minutes à 170° C :

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes.

Les disques en papier Wattman (6mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium.

II.6.4. Préparation des dilutions d'extraits de datte

Les quatre extraits : chloroformique, acétate éthylique et éthanolique (dattes et *robb*) ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations : 300 ; 200, 100, 20 ,10 ,5 ,2.5 ; 1.25 ; 0.625 µg /ml.

II.6.5. Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne (test de sensibilité)

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisé par la méthode de diffusion de disque ou les disques sont imbibés de 20 µl de chaque extrait (**Rahal et al., 2005**).

.*Préparation de l'inoculum

Dans la zone septique du bec Bunsen, à partir d'une culture pure de 18h sur une gélose nutritive, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester.

Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée.

La solution doit être homogène d'opacité de 0.5 Mc Farland.

L'inoculum peut être ajusté, soit de la culture s'il est faible ou d'eau distillée s'il est trop fort.

***Ensemencement et dépôt des disques**

Tremper un écouvillon dans la suspension bactérienne.

L'essorer en pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrés.

Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60°C a chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée.

Recharger l'écouvillon à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Déposer les disques imprégnés d'extraits délicatement sur la surface de gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

De même les antibiogrammes avec des antibiotiques appropriés sous forme de disques prêts à l'emploi ont été utilisés pour comparer les résultats (témoin positif) et des disques de Wattman imprégnés de DMSO seulement servent de témoin négatif.

Incuber les boîtes de Pétri pendant 18 à 24 heures à 37°C.

***Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes a été faite à l'aide d'un pied à coulisse, elle est réalisée au verso des boîtes de Pétri.

L'extrait n'est considéré actif que si le diamètre d'inhibition autour du disque est supérieur à 6mm.

Chapitre VI
Résultats et discussion

I. Caractéristiques de la matière première (*Deglet-Nour*)

I.1. Caractéristiques morphologiques de la datte

Les caractéristiques physiques de la datte étudiée sont les suivantes (Tab X).

Tableau X : Caractéristiques physiques de la datte *Deglet-Nour*.

paramètre	Valeurs moyenne
Couleur	marron
Consistance	demi-molle
Poids de la datte entière(g)	10.089 ± 0.81
Poids de la pulpe(g)	8.710 ± 0.81
Poids du noyau(g)	1.335 ± 0.80
Longueur de la datte (cm)	3.65 ± 0.47
Longueur du noyau (cm)	2.32 ± 0.20
Largeur (diamètre) de la datte entière (cm)	1.78 ± 0.09
Largeur (diamètre) du noyau (cm)	0.80 ± 0.04
Rapport pulpe/datte (%)	87.29
Rapport noyau/datte (%)	12.8

Déterminée visuellement, la couleur de la datte *Deglet-Nour* est marron, d'après **Rygg, (Munier, 1973)**, Les nuances brunes peuvent être dues aux réactions de brunissement non enzymatiques qui sont accentuées par l'exposition directe au soleil.

Les poids et la couleur de la datte reflètent sa bonne qualité.

II. Obtention et caractérisation des extraits de datte fraîche :

II.1. couleurs et aspects des extraits

Les quatre extraits obtenus après évaporation des solvants sont les suivants

1. L'extrait chloroformique : une poudre de coloration blanchâtre et à très faible rendement ;
2. l'extrait acétate éthylique : une poudre de coloration jaune à faible rendement
3. Les extraits éthanoliques (dattes et *robb*): une pâte huileuse de coloration marron, à bon rendement.

La couleur des extraits sont dues à des pigments de différentes natures. Selon la littérature ils peuvent être des caroténoïdes, des anthocyanes, des flavones, des flavonoles, du lycopène, des carotènes, des flavoxanthine et lutéine (**Nezam El-Din et al., 1982 ; Gross et al.,1983 ; Barreveld,1993**).

II.2.Rendement des extractions

Les rendements des extraits chloroformique et acétate d'éthyle sont très faibles par rapport aux extraits éthanolique (*robb*) et éthanolique (*datte*) : 0.03, 0.14 contre 11.8 et 16.02% respectivement (Fig12). Ce qui est attendu car l'éthanol est plus polaire que le chloroforme et l'acétate d'éthyle. Les taux de rendement sont croissants selon l'ordre de polarité des solvants. Certains auteurs ont obtenus des rendements plus élevés avec le méthanol. Toute fois **Owen et Jhons (1999)** estiment même que le rendement obtenu avec celui-ci dépasse celui obtenu par l'eau de 7 fois.

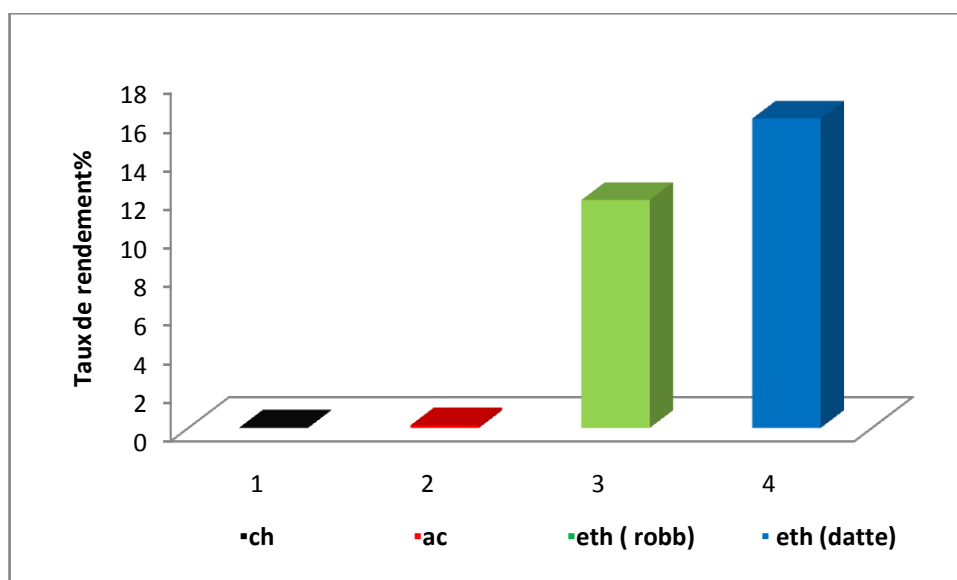


Fig. 12: Comparaison des rendements des quatre extraits (en% du poids frais)

III. Composition chimique

III.1. Teneur en polyphénols totaux

La spectrophotométrie a permis de quantifier le taux des polyphénols dans les quatre extraits : chloroformique, acétate éthylique, éthanolique (dattes) et éthanolique (*robb*). La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations, la courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. (Fig 13).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits chloroformique et acétate d'éthyle, sont très faibles par rapport aux extraits éthanolique (*robb*) et éthanolique (dattes) : 0.552 et 2.492 contre 339.84 et 381.27 mg EAG/100g de MF respectivement (Fig 14). Il paraît clairement que l'éthanol est le solvant qui permet d'avoir une concentration de polyphénols totaux plus élevée par rapport aux solvants apolaires, ce qui peut être expliqué par la grande dissolution des polyphénols dans les solvants polaires.

Nos résultats sont nettement plus supérieurs au résultat trouvé par **Mansouri et al. (2005)** qui est de 6.73 mg EAG/100g de MF pour un extrait méthanolique de la même variété de la région de Ghardaïa et inférieurs au résultat de **Wu (2004)** qui a trouvé une teneur de 661 mg EAG/100g de MF.

Dans une autre étude réalisée par **Dhaouadi et al. (2011)**, la teneur en polyphénols est de 548 mg EAG/100g de sirop de datte pour l'extrait méthanolique de sirop de la variété *deglet nour* tunisienne.

Les différentes teneurs en PPT de la variété de dattes résultent de l'effet d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont :

- Les facteurs climatiques et environnementaux : la lumière, les précipitations, la topographie, la saison et le type de sols (**Harris, 1977**),
- Le patrimoine génétique : la concentration des polyphénols est très variable d'une espèce à une autre et d'une variété à autre et diminue régulièrement durant la maturation ainsi que la période de récolte et le stockage par différentes voies du brunissement (**Macheix et al., 1990**).
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification (**Lee et al., 2003**).

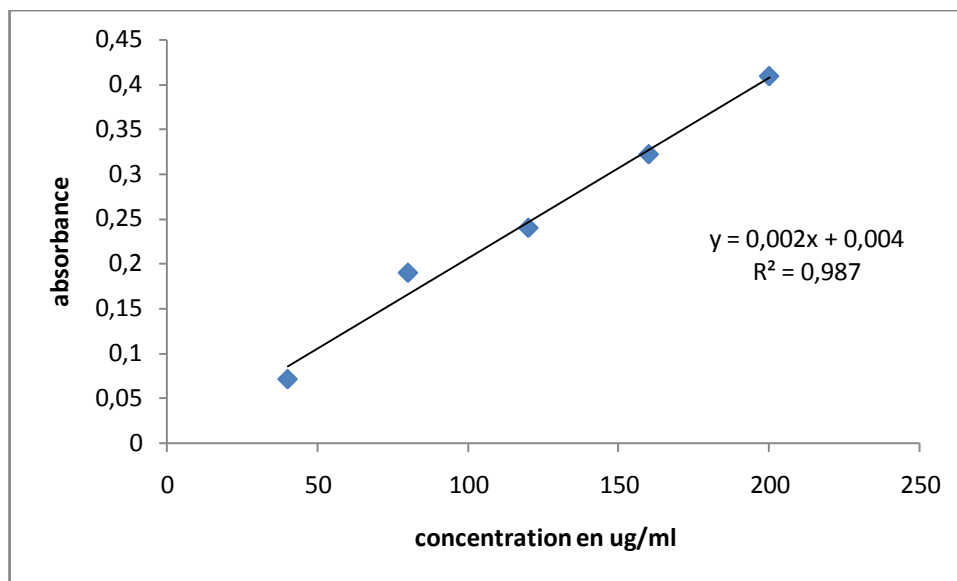


Fig.13: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

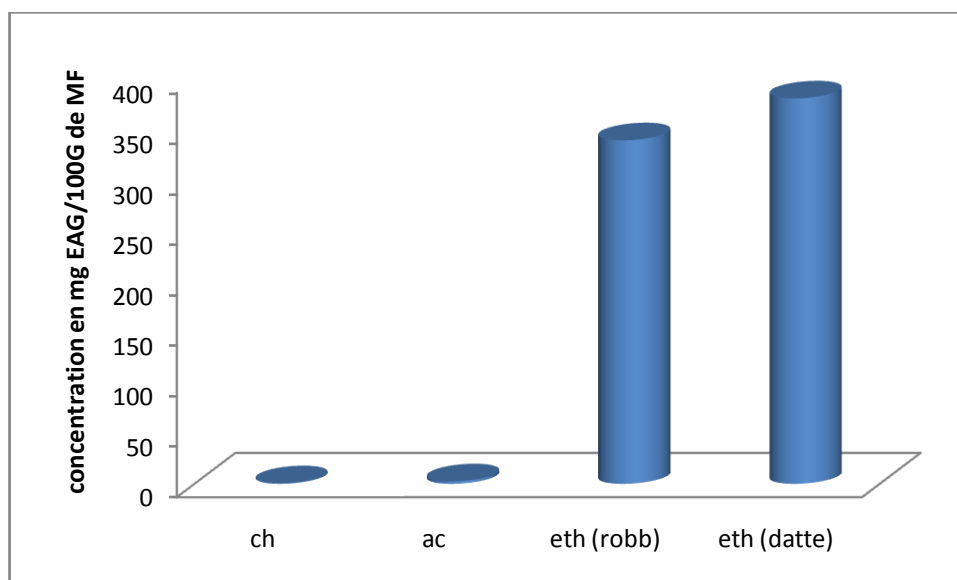


Fig.14 : Teneurs en PPT des quatre extraits

En comparant les teneurs en polyphénols de la datte *Deglet nour* à celles d'autres fruits qui sont de 0.273, 0.2, 0.425 ,0.132 ,0.217 % du poids frais pour le kiwi, la prune, la pamplemousse , la pomme et l'orange respectivement, on conclut que les dattes sont une bonne source d'antioxydants naturels. (**Al Farsi et al., 2005**).

Toutefois, les résultats du dosage des composés phénoliques n'indiquent pas les valeurs exactes des teneurs en polyphénols, puisque malgré sa grande sensibilité, la méthode Folin-Ciocalteu peut présenter des problèmes d'interférence, en effet le réactif Folin-Ciocalteu peut réagir avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane), les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose (**Boizot et Charpentier, 2006**).

III.2.Teneur en flavonoïdes

III.2.1.Teneur en flavonoïdes totaux

Après traçage de la courbe d'étalonnage par mesure d'absorbance de différentes concentrations de la quercétine, on détermine les teneurs en flavonoïdes des différents extraits (Fig. 15).

Les concentrations des flavonoïdes sont très faibles dans les extraits dans leur majorité, les teneurs en flavonoïdes sont de 41.8 mg EQ /100g de MF dans l'extrait éthanolique (dattes) suivie de celles des extraits éthanolique (*robb*) et acétate d'éthyle avec 33.37 et 0.67mg EQ /100g de MF respectivement et enfin celle d'extrait chloroformique avec 0.45 mg EQ/100g de MF(Fig.16).

Nos valeurs sont supérieures à la valeur trouvée par **Mansouri et al. (2005)** qui est de 0.136 mg EQ/ 100g de MF pour l'extrait méthanolique de la même variété. **Chaira et al. (2009)** ont trouvé une valeur assez proche de notre résultat avec une teneur en flavonoïde de 54.46 mg EQ/ 100g de MF pour l'extrait méthanolique de datte *Deglet-Nour* tuisienne.

La teneur en flavonoïdes de la datte est supérieure à celles de quelques fruits, données par **Haddadi (2005)** : 1.98, 3.22, 7.12, 2.10 et 17.53 mg/100 g du poids frais pour la tomate, la mandarine, le pamplemousse, la pomme et la fraise respectivement.

III.2.2. Teneurs en flavones et flavonols

Après traçage de la courbe d'étalonnage de la quercitine, on obtient les différentes concentrations de flavones et flavonols par projection des absorbances des différents extraits sur cette dernière (Fig.17)

Les teneurs en flavones et flavonols sont très faibles pour les extraits chloroformique et acétate d'éthyle comparés aux extraits éthanolique (*robb*) et éthanolique (dattes) : 0.157 et 0.5614 contre 11.32 et 24.67 mg EQ/100g de MF respectivement (Fig.18).

Aucun résultat du dosage des flavones et flavonols n'a été rapporté par d'autres auteurs sur la datte à notre connaissance pour pouvoir comparer nos résultats

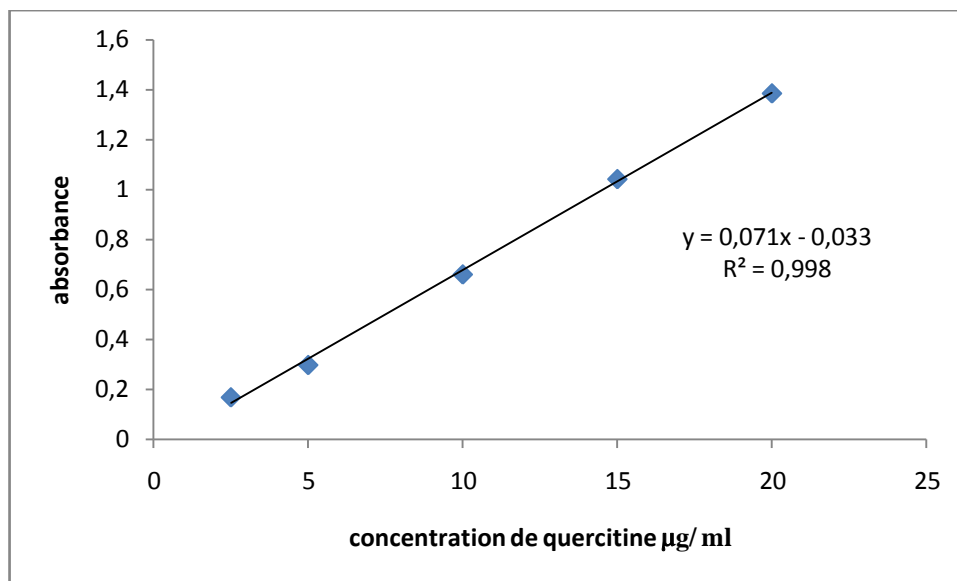


Fig.15 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

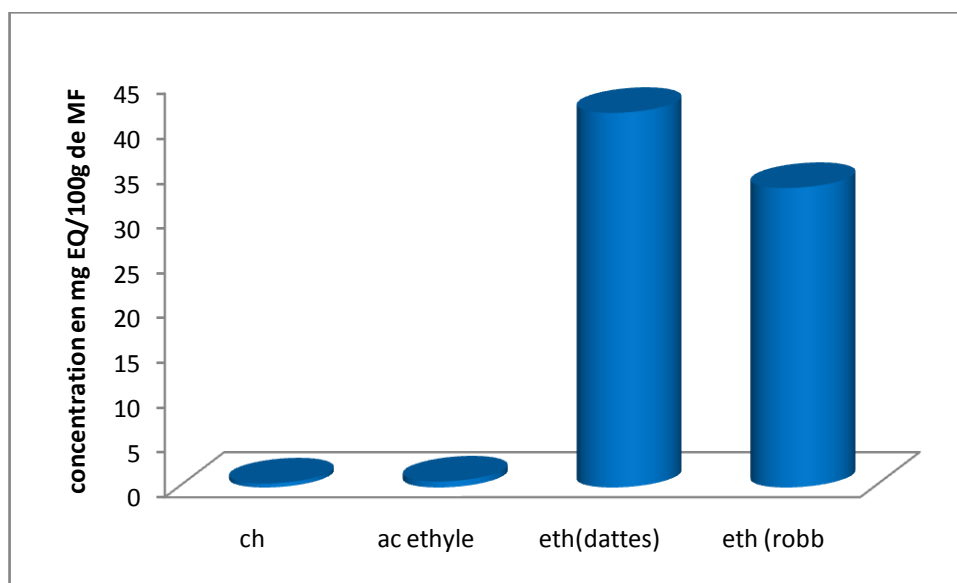


Fig.16 : Teneurs en flavonoïdes des quatre extraits

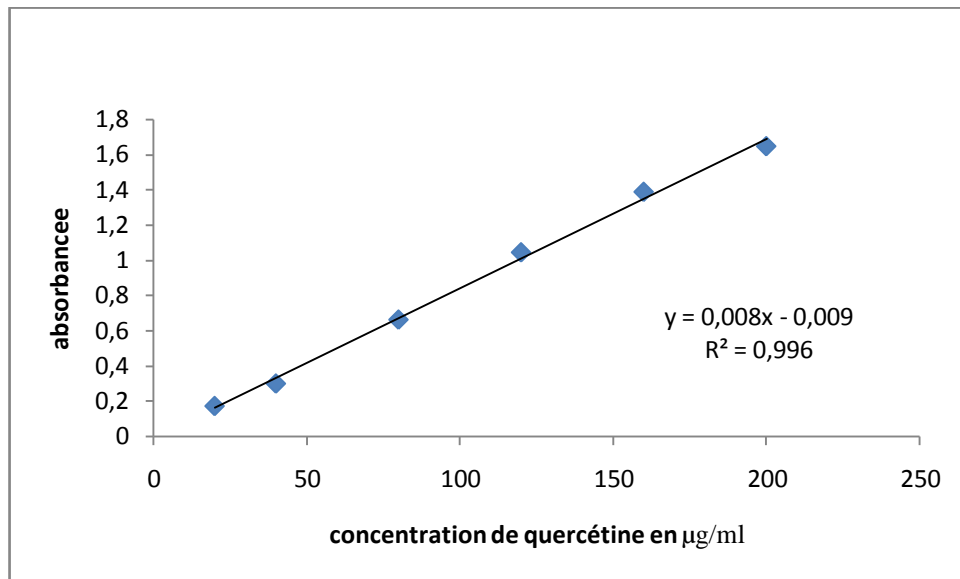


Fig. 17 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavones et flavonoles.

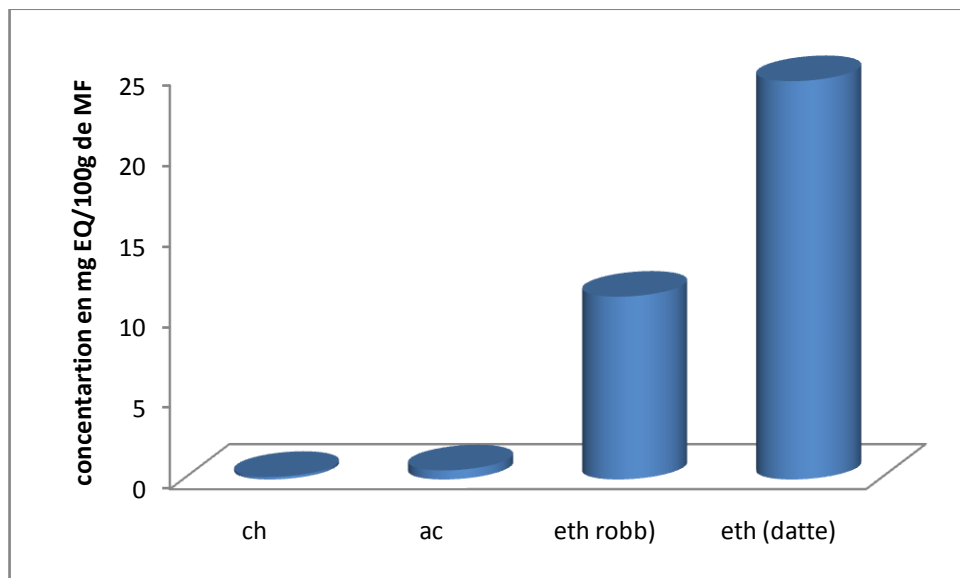


Fig .18 : Teneurs en flavones et flavonols des quatre extraits

L'extraction des composés phénoliques à partir des plantes est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction employée, la durée et les conditions de stockage ainsi que la présence des substances interférentes, différents solvants peuvent être utilisés tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone, le propanol, l'acétate d'éthyle, l'eau.....etc (**Naczk et al., 2006**).

L'utilisation de solvants à polarité croissante permet de séparer les composés des extraits selon leur degré de solubilité et donc permet de séparer les flavonoïdes selon leurs degrés de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et triglycosylés) (**Ciulei, 1982**).

La méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (**Lee et al., 2003**).

Les composés contenus dans les différents extraits et qui peuvent être dissouts dans les solvants polaires sont : les flavonoïdes et coumarines glycosylés, les flavonoïdes sulfatés, les acides phénols et les tanins alors qu'avec les solvants apolaires on obtient les flavonoïdes aglycone hautement méthoxylés, les terpènes, les lipides et les acides gras (**Ciulei, 1982**).

La majorité des composés phénoliques sont polaires dans la variété *Deglet -Nour*, plusieurs chercheurs l'ont confirmé en identifiant les acides cinnamiques qui sont les plus dominants, les acides féruliques, sinapiques, coumariques et leurs dérivés tels que l'acide 5-*o*-cafféoylshikimique (**Mansouri et al., 2005**).

Le sirop de datte (*robb*) est aussi riche que la datte elle-même en polyphénols, le profil phénolique a été établi par **Dhaouadi et al. (2011)** par extraction à l'acétone où l'acide coumarique, l'ester d'acide gallique, l'ester d'acide vanillique, cinnamique, l'acide 3,4-dicaffeoylquinique, l'acide cafféoylshikimique, l'acide cafféoylsinapylquinique et l'acide caféique ont été identifiés.

La partie non polaire peut correspondre aux phytoestrogènes isolés à partir de la datte par extraction à l'hexane comme 3-hydroxyphytosterols, 3,6 diketophytosterol et 3-keto-6-hydroxyphytosterol (**Fernandez et al., 1983**).

En revanche les teneurs en flavonoïdes sont faibles devant ceux des polyphénols totaux (Annexe I). L'extraction par le mélange acétone-eau-acide acétique a pu aboutir à l'identification des flavonoïdes glycosidés de la variété *Deglet-Nour* comme la quercétine mono-, di- et triglycosylée, la luteoline méthylée et sulfatée et l'apigénine di-glycosylée ainsi la datte est le seul fruit qui contient un flavonoïde sulfaté (**Hong et al., 2006**).

IV.L'activité antioxydante et antiradicalaire

IV.1. Mise en évidence de l'activité antioxydante par la méthode du β - carotène

Le test de décoloration du β - carotène, nous a permis de percevoir des halos de couleur orange autour des puits contenant les extraits et les comparer au BHA témoin positif.

Ce sont les extraits éthanoliques (dattes et *robb*) qui ont donné des halos d'inhibition de diamètre de 24.3 et 18 mm respectivement proche de celui du BHA avec 26.8 mm tandis que les autres extraits chloroformique et acétate d'éthyle ont donné des halos de couleur moins intense et de diamètre de 8 et 11.4 respectivement (Fig 19).

Sharififar et al. (2009) ont étudié l'activité antioxydante des extraits méthaolique, chloroformique et éther de pétrole de *Teucrium polium* L, et ont trouvé des diamètres de hallos de rétention de couleur de 25.8, 5.1 et 9.2 mm respectivement, ou la première valeur était proche de celle du témoin positif BHT avec un diamètre de 28.1mm.

Ces résultats montrent que les extraits éthanoliques (dattes et *robb*) possèdent un potentiel antioxydant important du aux polyphénols notamment les flavonoïdes qui stabilisent le radical peroxyde par donation d'hydrogène (**Al-Farsi et al., 2005**)

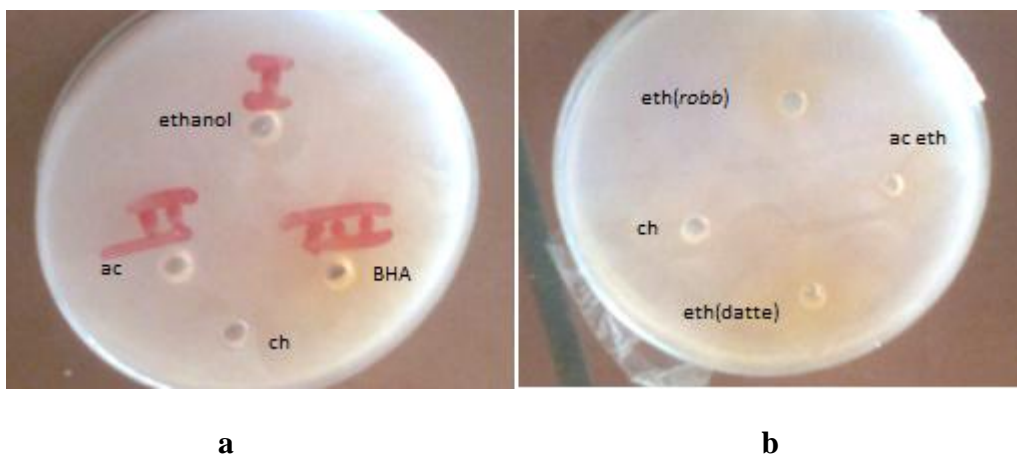


Fig. 19 : Test de décoloration du β - carotène en présence et en absence des extraits

a : Témoin positif (BHA) et témoins négatifs (éthanol, acétate d'éthyle et chloroforme).

b : les différents extraits.

IV.2. Test de blanchissement du β - carotène (the bleaching test)

La technique de décoloration du β -carotène/ acide linoléique permet d'évaluer l'activité antioxydante des quatre extraits par inhibition de la peroxydation des lipides en suivant l'absorbance dans le temps.

Les absorbances des milieux réactionnels en absence des extraits diminuent rapidement dans le temps, alors que l'ajout des extraits ou du BHA ralentit ce déclin. En effet les extraits éthanoliques (dattes et *robb*) ont un effet sur l'allure de cette courbe qui devient stable à partir de 48 h (Fig 20).

L'activité antioxydante (inhibition%) la plus élevée est retrouvée dans l'extrait chloroformique et acetate d'éthyle avec $55.33\% \pm 0.88$ et $52.66\% \pm 0.7$ respectivement proche de celle du BHA ($55\% \pm 0.03$) (Fig 21).

Les extraits éthanoliques (dattes et *robb*) ont montré une capacité antioxydante de 33.66 et 36.66% respectivement, inférieure par rapport aux autres extraits malgré leur richesse en polyphénols (les flavonoïdes surtout).

Nos résultats sont similaires aux résultats d'une étude réalisée par **Dongmei Yang et al. (2007)** sur des extraits du rhizome du lotus ou l'extrait méthanolique est plus riche en polyphénols : 20.1mg équivalent en catechine/100g de MS mais ne montre qu'une faible activité antioxydante comparé aux extraits éther de pétrole et dichlorométhane dont la valeur est assez proche à celle du témoin BHA, et moins riches en composés phénoliques(2.2 et 2.4 mg équivalent en catechine/100g de MS respectivement).

Cela peut s'expliquer par une mauvaise agitation qui induit un paradoxe polaire, d'après **Fränkel et al., (1994)**, le test de blanchiment du β - carotène est similaire à un système d'émulsion dans l'eau ou les extraits apolaires sont concentrés dans l'interface lipide-eau permettant ainsi la prévention de la formation des radicaux libres alors que les antioxydants hydrosolubles se trouvant dans les extraits polaires restent dilués dans la phase aqueuse et sont moins actifs.

Selon **Haddadi (2005)** plusieurs facteurs semblent moduler les résultats d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique à savoir la nature liposoluble ou hydrosoluble des antioxydants et leur concentration.

Il a été établi que l'activité antioxydante est due aux acides cinnamiques, et les flavonoïdes (flavone, flavonols et flavonones) **Mansouri et al. (2005)**.

La haute capacité de l'extrait chloroformique d'inhiber l'acide linoléique, laisse supposer que les composés liposolubles responsables de cet effet sont la fraction moins polaire des flavonoïdes hautement méthylés, et les caroténoïdes dont *Deglet –Nour* contient 0.77mg/100g de poids frais tels que la lutéine et le β - carotène (**Al Farsi et al., 2007**).

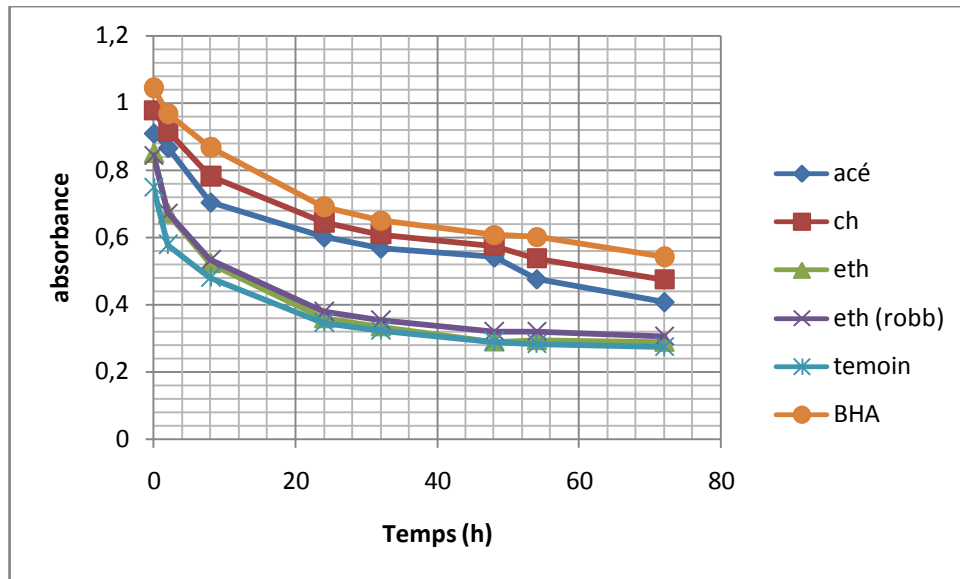


Fig. 20 : Évolution de la décoloration du β -carotène en présence et en absence des différents extraits et du témoin positif BHA

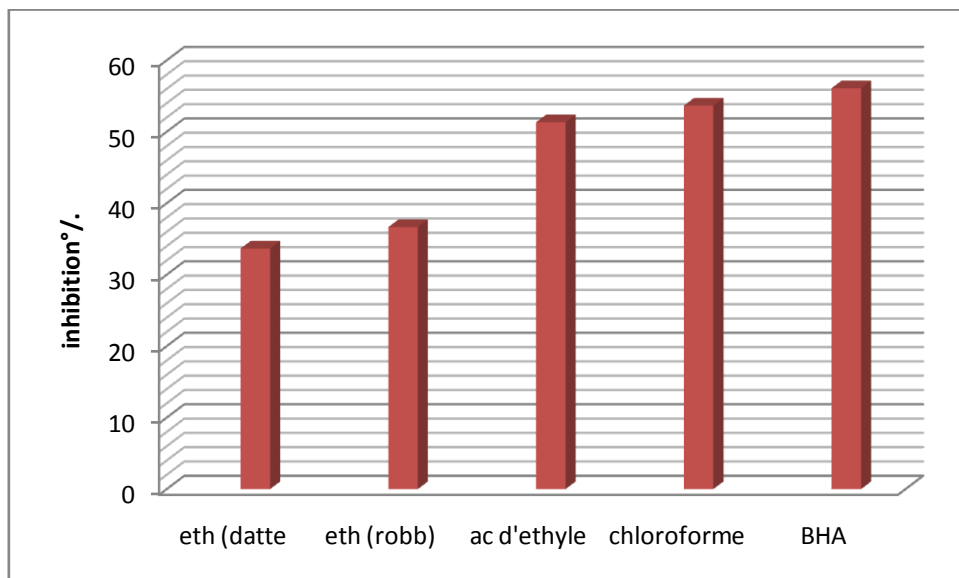


Fig.21 : Activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition en présence des extraits et le BHA (après 48h)

IV.3. Test antiradicalaire (Test DPPH)

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est fonction de la concentration des différents extraits utilisés (0 à 200 µg/ml) et du témoin BHT (antioxydant de référence) (fig22-26).

L'activité antiradicalaire de nos extraits est exprimée en IC₅₀ déterminée graphiquement, elle est de 924 et 715.91µg/ml pour les extraits chloroformique et acétate d'éthyle alors qu'avec les extraits (dattes et *robb*) la valeur est 55.6 µg/ml et 64.84µg/ml assez proche de celle du BHT qui est de 37.3µg/ml (Tab XI).

Tableau XI : Valeurs des IC₅₀ du DPPH pour les extraits.

extrait	IC ₅₀ (µg/ml)	EA
BHT	37.3	0.026
Chloroformique	924	0.001
Acétate d'éthyle	715.91	0.0013
Ethanol (dattes)	55.6	0.017
Ethanol (<i>robb</i>)	64.84	0.015

Tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le DPPH, plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Une étude menée par **Liolios et al. (2009)** sur une autre espèce de dattes *Phoenix theophrasti* a montré une IC₅₀ de 17 µg/ml lorsque l'extraction a été menée par le méthanol, cette valeur est nettement inférieure à celle trouvée par **Mansouri et al. (2005)** qui est de 243.6 µg/ml.

Cette différence peut être expliquée par le fait qu'il s'agit non seulement de deux espèces différentes mais aussi de l'action combinée des différents composés à activité antiradicalaire qu'elles peuvent contenir (les polyphénols glycosides, les peptides, les acides organiques...).

La capacité antiradicalaire des extraits chloroformiques et acétate d'éthyle estimée par la technique DPPH est très faible, ces extraits qui étaient d'excellents antioxydants dans le test de la décoloration du β -carotène, ont faiblement réagi dans cet essai. Notons que le pouvoir antioxydant d'un composé chimique n'est pas nécessairement égal à sa capacité de réduire le DPPH. Cela peut être expliqué par le fait qu'ils ne contiennent pas d'acides phénols, des acide hydroxycinnamiques ou des flavonoïdes monoglycosylés et diglycosylés qui sont les plus susceptibles du pouvoir antiradicalaire de la datte (**Sundus , 2009**).

Un autre paramètre exprime la puissance anti-radicalaire a été calculée à partir du premier paramètre notée : "EA" (efficacité anti-radicalaire, égale à $1/IC_{50}$). Les valeurs EA de tous les extraits sont significatives. Plus ces valeurs sont grandes plus la puissance antiradicalaire est grande. L'EA est estimée à 0.08 dans une étude réalisée par **Sundus (2009)** sur les extraits aqueux de plante *Phoenix dactylifera* légèrement supérieure à celles des extraits ethanoliqes (dattes et *robb*) avec 0.017 et 0.015 respectivement.

L'activité antiradicalaire des extraits ethanoliqes (dattes et *robb*) est attribuée à l'habilité du groupement $-CH=C-COOH$ des acides cinnamiques de réduire le radicale DPPH par le proton H(**Mansouri et al.,2005**), et aux flavonoïdes : l'apigénine en partie, car la réduction du DPPH par l'antioxydant dépend de la présence du groupement hydroxyle OH en position 3, l'orthodihydroxy en position 3' et 4' et le groupement carbonyle en position 4 qui provoque la délocalisation des électrons du phénol (**Rastija et al.,2009**),

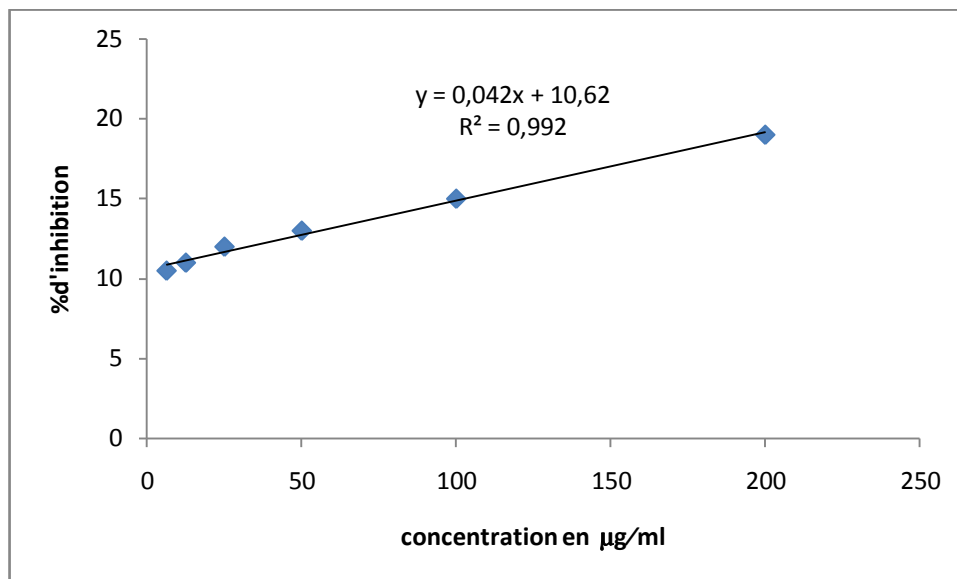


Fig. 22 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait chloroformique

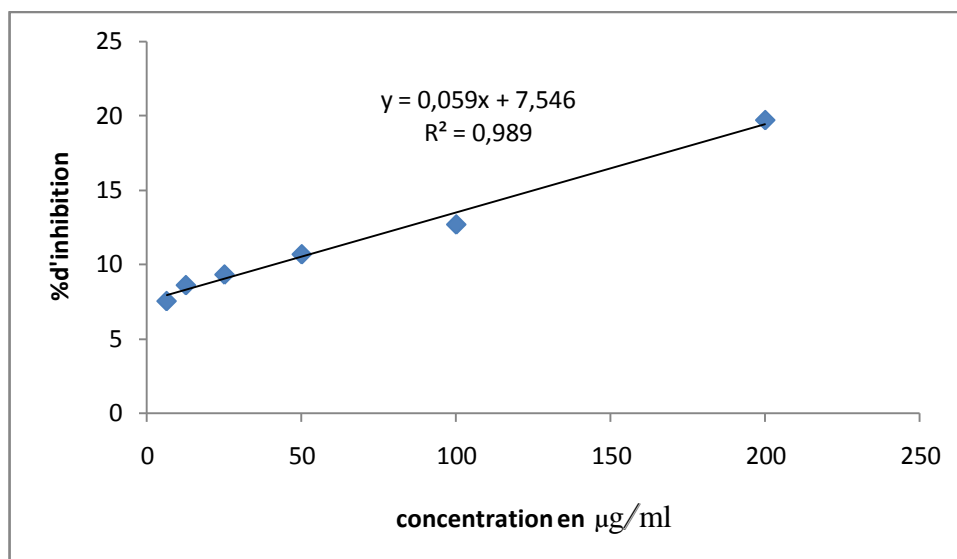


Fig.23 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait acétate d'éthyle

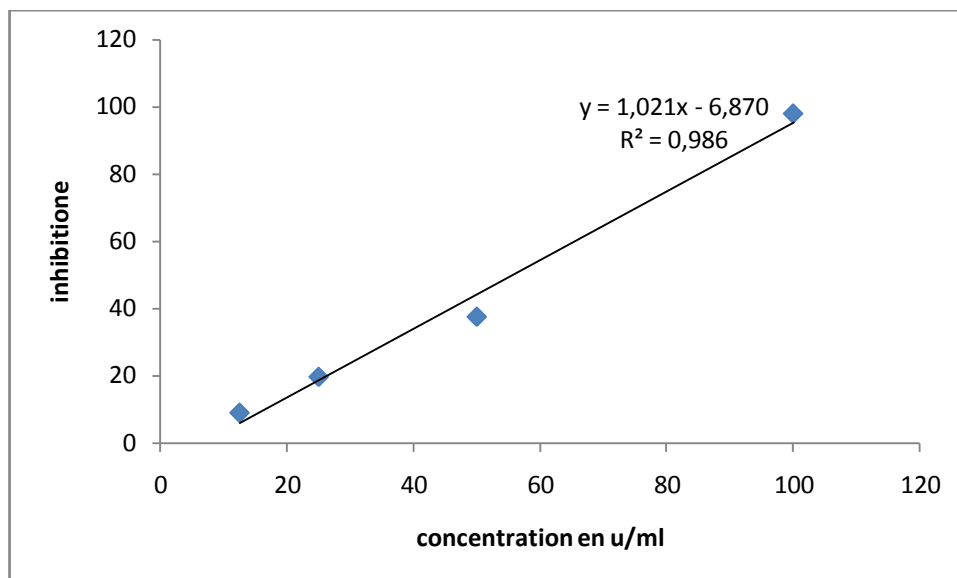


Fig.24 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique (datte)

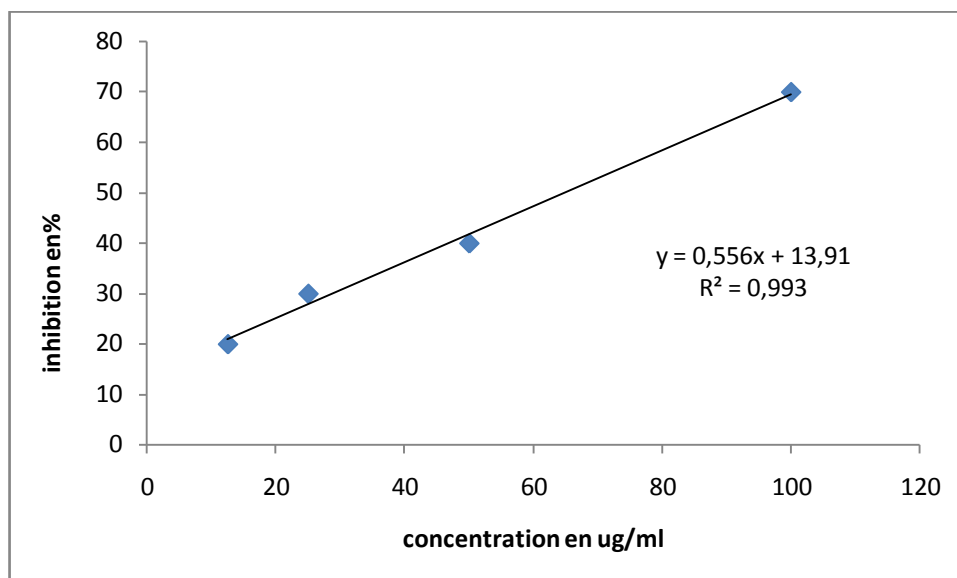


Fig.25 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique (robb)

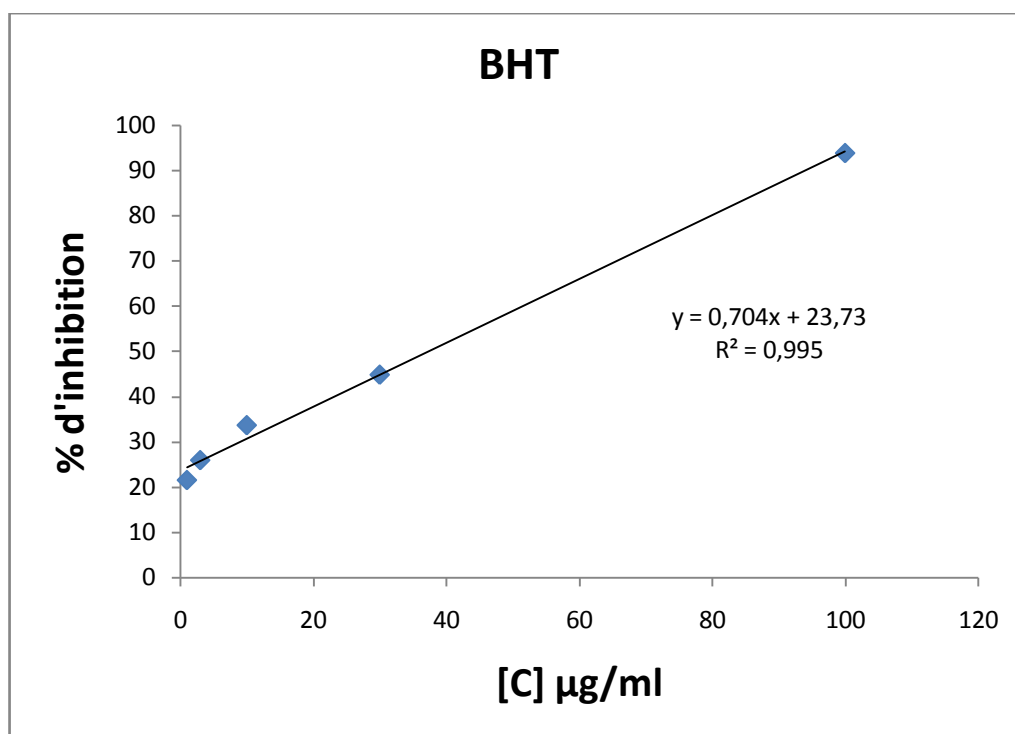


Fig. 26 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration du BHT

V.L'activité antibactérienne

V.1.Les antibiogrammes

Les souches de bactéries Gram + (*S. aureus*) et Gram- (*E.coli* et *P. aeruginosa*) ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés : l'ampicilline, l'ofloxacine, la cefotaxime, la ticarciline et la spiramycine (Tab XII) :

Tableau XII : Diamètre de zone d'inhibition en mm en présence de quelques antibiotiques

antibiotique souche	AMP	CTX	OFX	TE	SP
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	21.67	26.32	33.00	14.0	9.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	6.33	20.43	18.5	7.5	7.33
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25.08	36.65	37.33	14.33	12.67

La bactérie *E.coli* est sensible à l'ampicilline, la cefotaxime et l'ofloxacine avec des diamètres de zones d'inhibition de 21.67 , 26.32 et 33 mm respectivement, alors qu'elle est plus au moins résistante à la ticarciline avec un diamètre de 14 mm et à la spiramycine avec un diamètre de 9.5mm.

Pseudomonas aeruginosa qui est une bactérie Gram - a montré une résistance à trois antibiotiques en occurrence l'ampicilline (6.33mm), ticarciline (7.5mm) et spiramycine (7.33mm) alors que l'ofloxacine et la céfoxitine ont manifesté un effet bactéricide avec 18.5 et 20.43mm respectivement.

Staphylococcus aureus qui est une bactérie Gram +, est la souche la plus sensible aux différents antibiotiques surtout la cefotaxime (36.65mm) et l'ofloxacine (37.33mm)

Parmi les bactéries testées, l'ampicilline a montré un effet inhibiteur envers *E.coli* et *S. aureus* alors que *P. aeruginosa* a montré une certaine résistance envers cet antibiotique.

la ticarciline et la spiramycine ont manifesté un effet inhibiteur sur les bactéries inférieur à ceux manifestés par les autres antibiotiques.

V.2.Sensibilité aux extraits bruts :

Les effets inhibiteurs de la croissance du germe *E. coli* sont manifestés par les extraits éthanoliques (dattes et *robb*) à partir d'une concentration de 100 µg/ml, avec des diamètres de 7mm. Une concentration trois fois plus grande n'a donné que 7.66 et 8.33mm pour les mêmes extraits respectivement (Tab XIII).

Pour *P. aeruginosa*, l'effet inhibiteur est clair à partir de la concentration de 20 µg/ml avec un diamètre d'inhibition de 10 mm, pour des concentrations de 300 µg/ml les diamètres sont de 12.66 et 14 mm pour les deux extraits éthanoliques dattes et *robb* respectivement (Tab XIV).

Les extraits chloroformique et acétate éthylique n'ont manifesté aucun effet inhibiteur sur ces deux germes.

Concernant la bactérie *S. aureus*, les extraits ont manifesté des effets inhibiteurs distincts. En effet, les extraits éthanoliques (dattes et *robb*) sont plus efficaces que les extraits chloroformique et acétate éthylique, ce germe est sensible aux extraits chloroformique et acétate éthylique à partir d'une concentration de 300 et 200 µg/ml avec des diamètres de zones d'inhibition de 7 et 7.66 mm respectivement alors qu'avec les extraits éthanolique (dattes et *robb*), les diamètres varient entre 9 et 12mm à partir d'une concentration de 20µg/ml (TabXV).

L'effet inhibiteur a été obtenu avec l'extrait acétone -eau de sirop de datte tunisienne " *Deglet-Nour* " avec les souches de *S. aureus* ATCC 6538 et *P. aeruginosa* ATCC9027, les diamètres étaient de 16 et 15.2 mm respectivement alors qu'aucun effet n'a été obtenu avec la souche *Escherichia coli* ATCC 8739 (Dhaouadi et al. ,2011).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) exprimées par les extraits éthanoliques (dattes et *robb*) sur les souches testées ont été comprises entre 20µg/ml sur les souches *S. aureus* et *P. aeruginosa* et 100 µg/ml sur *E.coli*.

Les CMI sont de 200 µg/ml et 300µg/ml pour les extraits acétate d'éthyle et chloroformique respectivement sur la souche *S. aureus* (TabXVI).

Dhaouadi et al. (2011) a trouvé des valeurs de CMI d'extrait acétonique de sirop de datte tunisienne de 50 et 250 µg/ml avec les souches de *S. aureus* ATCC 6538 et *P. aeruginosa* ATCC9027 respectivement.

Cowan (1999) a rapporté que les différentes classes de polyphénols, essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes en fonction du site, la conformation spatiale et le nombre de groupement hydroxyles.

Cet effet est expliqué par l'inhibition de la prolifération des bactéries qui s'adsorbent sur les membranes cellulaires par interaction avec les enzymes et effecteurs ou privation des ions métalliques des substrats (**Dhaouadi et al., 2011**).

L'activité antibactérienne du sirop de datte (*robb*) est due à la présence de l'acide caféique, **Rodriguez et al., (2007)** ont rapporté que la fraction propénoïque des acides hydroxycinnamiques, moins polaire peut entrer en interaction avec la membrane lipidique cellulaire et neutraliser son potentiel électrique et ainsi affecter son métabolisme.

La variation de la composition chimique des extraits explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne (Annexe II, III)

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie, ou addition) de différents composés (**Essawi et Srour, 2000**). D'autres études attribuent l'activité antibactérienne aux acides gras saturés contenus dans la variété *Deglet-Nour*. De ce fait l'effet antibactérien des extraits chloroformique et acétate d'éthyle peut être attribué aux acides gras, phytoestrogène ou aux deux s'il y a synergie entre leur activité antibactérienne, par perforation de la membrane bactérienne et le flux rapide des composants cytosoliques.

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on va citer :

- Inhibition de la synthèse d'acide nucléique,
- altération des fonctions de la membrane cytoplasmique,
- Séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne,
- Inhibition du métabolisme énergétique microbien (**Hilliard, 1995**).

Tableau XIII : Diamètre de zones d'inhibition (en mm) obtenu avec *Escherichia coli*

extrait	Concentration en µg/ml	Diamètre d'inhibition
Ethanolique (dattes)	0.625	-
	1.25	-
	2.5	-
	5	-
	10	-
	20	-
	100	7
	200	7.3
	300	7.66
Ethanolique (robb)	0.625	-
	1.25	-
	2.5	-
	5	-
	10	-
	20	-
	100	7
	200	8
	300	8.33

Tableau XIV : Diamètre de zones d'inhibition (en mm) obtenu avec *Pseudomonas aeruginosa*

extrait	Concentration en µg/ml	Diametre d'inhibition
Ethanolique (dattes)	0.625	-
	1.25	-
	2.5	-
	5	-
	10	-
	20	10
	100	10.33
	200	11.66
	300	12.66
Ethanolique (robb)	0.625	-
	1.25	-
	2.5	-
	5	-
	10	-
	20	10
	100	12
	200	14
	300	14

Tableau XV : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus avec *Staphylococcus aureus*

Concentration µg/ml extrait	Ethanolique (dattes)	Ethanolique (<i>robb</i>)	Acétate d'éthyle	Chloroformique
0.625	-	-	-	-
1.25	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-
5	-	-	-	-
10	-	-	-	-
20	9.33	9	-	-
100	11.16	11	-	-
200	12	11.16	7	-
300	12	12	7.66	7

Tableau XVI : Concentrations minimales inhibitrices exprimées pour les différents extraits sur les souches testées (mm)

souche extrait	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
Ethanolique (dattes)	100	20	20
Ethanolique (<i>robb</i>)	100	20	20
Acétate d'éthyle	-	200	-
chloroformique	-	300	-

Conclusion

Conclusion

Deux aspects principaux sont visés par ce travail, le premier était d'évaluer les teneurs par spectrophotométrie de certaines molécules bioactives telles que les polyphénols totaux, les flavonoïdes, flavones et flavonols.

Le second de nature biologique qui a été mis en évidence par deux test biologiques différents ; un test antioxydant et test antibactérien.

Cette étude sur la variété *Deglet-Nour* nous a permis de :

.Préparer des extraits à partir de solvants organiques a polarité croissante.

.Evaluer les rendements de chaque extrait et de déterminer la teneur en polyphénols totaux , flavonoïdes, flavones et flavonols. En effet l'extrait à l'éthanol était plus rentable, 16.02% et plus riche en composés polyphénoliques que ceux obtenus par les autres solvants.

La mise en évidence d'activités biologiques dans les extraits de dattes a révélé, une résistance de certaines souches bactériennes et paradoxalement une forte sensibilité d'autres souches en occurrence *Pseudomonas aeruginosa* qui, généralement, manifeste une résistance aux extraits de plantes ce qui explique la présence de substances douées d'activité antibiotique.

.Une autre activité a été aussi étudiée, il s'agit de l'activité anti radicalaire utilisant le DPPH et l'activité antioxydante utilisant le β -carotène/ acide linoléique, les résultats n'étaient pas similaires pour les deux tests, ce qui prouve la présence de diverses molécules à activité biologique différentes présentes dans les extraits.

.Les résultats obtenus ne peuvent être attribués qu'à une partie des composés phénoliques.

Pour mieux valoriser les dattes, nous estimons intéressant d'élargir l'éventail des variétés locales, d'établir leurs profils phénoliques, purifier leurs constituants et étudier leurs structures en utilisant des techniques plus performantes (HPLC, RMN...) . L'identification des principes actifs pourra conduire à améliorer leurs pouvoirs biologiques en procédant à des modifications structurales de ces molécules (substitutions, héli synthèseetc).

Références bibliographiques

Références

- Acourene S. et Tama M.** (1997). Caractérisation physicochimique des principaux cultivars de datte de la région des Zibans. *Recherche Agronomique*, N° 1. Ed. INRAA, Alger .59-66p.
- Aït- Ameer L.** (2001). Analyse du processus de diffusion des sucres, des acides organiques et de l'acide ascorbique dans le système : Mech-Degla/Jus de citron. Mémoire de magister. Option génie Alimentaire. Boumerdes, 80 p.
- Alais C. et Linden G.** (1997). Biochimie alimentaire. Ed.Masson, Paris. pp 120-125.
- Albert L.** (1998). La santé par les fruits. Ed. Veechi, Paris. 44-74 p.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., Shahidi, F.** (2005). Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, caroténoids, and phenolics of three native fresh and sun-drieddate (*Phoenix dactylifera L.*) Varieties grown in Oman. *J. Agric .Food .Chem.* **53**: 7592-7599.
- Al-Farsi M., Alasalvar C., Al-Abid M., Al-Shoaily K., Al-Amry M. and Al-Rawahy F.** (2007).Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *J. Food Chem.***104**: 943–947.
- Al-Hooti S., Sudhus S. and Gabazard H.** (1998). Chemical composition of seeds of date fruit cultivars of United Arab Emirates. *J.Food Chem.Technol.* **35**: 44-46.
- Alibert J., Ranjeva R. et Boudet M A.** (1977). Organisation subcellulaire des voies de synthèses des composés phénoliques. *Physiol. Veg.* **15**: 279-301.
- Al-Shahib W. and Marshall R J.** (2002). Dietary fibre content of dates from 13 varieties of date palm *Phoenix dactylifera L.* *Inter .J .Food .Sci and Tech.* **37**: 719-721.
- Anonyme.** (2002). Statistiques agricoles : Superficies et productions. Ministère de l'agriculture et du développement rural. Série A, 5-6 p.
- Aouissa I.W.R.** (2002) .Etude des activités biologiques et toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica L.* (anacardiaceae). Mémoire de doctorat.Université de Bamako.Mali.127p.

- Aruoma O I. Spencer J P E, Butler J. and Halliwell B.** (1995). Commentary reaction of plant derived and synthetic antioxidants with trichloromethylperoxyl radicals. *Free Rad. Res.* **22**: 187-190.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and Pinkas M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittle Forshing.* **46** (11):1086-1089.
- Barreveled W.H.** (1993). Date Palm Products. FAO, Agricultural services, Bulletin N°101, FAO, Rome, 211 p.
- Belguedj M.** (2001). Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est Algérien, N° 11, INRAA. El-Harrach , Alger. 289 p.
- Belhatab R.** (2007). Composition chimique et activité antioxydante, antifongique et anti aflatoxinogène d'extraits de *Origanum glandulosum* Desf. et *Marrubium vulgare* L (famille des Lamiaceae). Thèse de doctorat d'état. Dépt. Biologie, UFA Setif.
- Belhatab R. , Larous L., Kalantzakis G., Boskou D. and Exarchou V.** (2004) Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. *J. food Agric .Environment.* **2**(1):69-73.
- Benamara S., Chibane H. et Boukhelifa M.** (2004). Essai de formulation d'un yaourt naturel aux dattes. *Revue Industrie Agricole et Alimentaire.* Actualités techniques et scientifiques, N°1. 11-14p.
- Benchabane A.** (1996). Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la dattes". In Options méditerranéennes, série A, N° 28. Séminaires méditerranéens. Ed. IAM, Zaragoza, Spain. pp 205-210.
- Benchelah, A.-C. et Maka, M.** (2008). Les Dattes, intérêt et nutrition. *Phytothérapie (ethnobotanique).* **6**: 117 -121.
- Besbes S., Drira, L., Blecker, K., Deroanne, C. and Hamadi, A.** (2009). Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): compositional, functional and sensory characteristics of date jam. *J. Food. Chem.* **112**: 406-411.
- Bidet D, Gagnault J, Girard P. et Trotin F.** (1987). Inflammation, allergie douleurs et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: les flavonoïdes . *J .act. chim.* **4** : 89-97 .
- Boizot N. et Charpentier J P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, N° spécial : 79-83.

- Bouddrar C., Bouzid L. et Nait larbi H.** (1997). Etude des fractions minérale et glucidique de la datte *Deglet-Nour* au cours de la maturation. Mémoire d'Ingénieur, INA. El-Harrach. Alger 60 p.
- Boughnou N.** (1988). Essai de production de vinaigre à partir de déchets de dattes. Mémoire magister, INA. El Harrach. Alger, 82 p.
- Bouguedoura N.** (1991). Connaissance de la morphogenèse du palmier dattier. Etude *in situ* et *in vitro* du développement morphogénétique des appareils végétatifs et reproducteurs. Mémoire de doctorat. U.S.T.H.B. Alger. 201 p.
- Boulekbache L.** (2005). Profil GC-MS des polyphénols d'une plante médicinale : *Eucalyptus globulus*. Mémoire de Magister. Université de Bejaïa. 71p.
- Braca A., Sortino C., Morelli.J. and Mendez.J.** (2002). Antioxydant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Ethnopharmacol.* **43**: 79-379.
- Brouillard R.** (1986). The flavonoids Advances. In: research since 1993. Harborne J B, Chapman and Hall, London. pp 525-538.
- **Brownlee H., Hedjer J. and Scott I.** (1992). Effects of a range of procianidins on the cocoa pathogen *Crinipallis perniciosa*. *Phys. Mol. Plant pathol.* **40** : 227-232 .
- **Bruneton J.** (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. Ed Lavoisier, Paris .278-279 p.
- Calabrese G.** (2003). Valeur nutritionnelle des raisins de table. *Bult Off. Inter. Vin.* 862-864 p.
- Chaira N., Smaali, M I., Martinez-Tomé M., Mrabet, A., Murcia, M. A. and Ferchichi, A.** (2009). Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water–methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *Inter. J. Food Sci. Nutr.* **60**: 316–329.
- Cheynier V.** (2005). Dietary polyphenols and health: Proceedings of the 1st international conference on polyphenols and health. *Am. J. Clinic. Nutr.* **81** (1): 223-229.
- Ciulei J.** (1982) Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed. Ministry of Chemical Industry. Romania. 67 p.
- Cook J. A. and Furr J.R.**(1952). Sugars in the fruits of soft, semi-dry and dry commercial date varieties. Date Growers Inst. Rept. N° 29. 3-4 p.

- Cowan M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **12** (4):564-582.
- Daayf F., El Bellaj M., El Hassni M., Jaiti F. and El Hadrami I. (2003). Elicitation of soluble phenolics in date palm (*Phoenix dactylifera*) callus by *Fusarium oxysporum f.sp. albidinis*. *Environ. Experiment. Botany*. **49** :41-47.
- Dacosta Y. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta , Paris. p 317.
- Das H, Wong J and Lien E. (1994). Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity-relationship (SSAR) analysis. *Prog Drug Res*. **42**:33-66.
- Dean F M. (1963). Natural occurring Oxygen Ring Compounds. Ed Butterworth, Londres. p 123.
- De Oliveir M., Sampaio M., Simon F., Gibert B. and Mors W. (1972). Antitumor activity of condensed flavonols. *An. Acad. Brazil.* 41-44.
- Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barajoun E., Vilanova E., Hamdaoui M. and Fatouch S. (2011) Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem.* **59**:402-406.
- Didry N., Pinkas M et Torck M. (1982). La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *Gaïndelia*. *PI. Med. Phytother.* **16** : 7-15 .
- Djerbi M, (1994). Précis de phéniculture, F.A.O, Rome. p 191 .
- Djouab, A., (2007). Contribution à l'identification des constituants mineurs de la datte Mech-Degla. Essai de valorisation par incorporation dans une recette de margarine allégée. Mémoire de Magister. option génie alimentaire, Université de Boumerdès. 24 p.
- Domenico T., Francesco C., Maria G.S., Vincenza V., Mariateresa C.D., Antonella S., Gabriela M. and Giuseppe B. (2005). Mechanisms of antibacterial action of Three Monoterpenes. *Antimicrob Ag. Chemother.* **49**: 2474-2478.
- Dongmei Yang M., Qiushuang M., leqin Ke B., Jianmei J. and Tiejin Y. (2007). Antioxidant activities of various extracts of lotus (*Nelumbo nuficera Gaertn*) rhizome. *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* **16**:158-163.
- Espiard E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc. Lavoisier, Paris. pp 147-155.

- Essawi T. et Srour M.** (2000) Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J.Ethnopharm.* **70** : 343-349.
- Estanove P.** (1990). Note technique : Valorisation de la datte. In : Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. Ed. CIHEAM. pp 301-318.
- FAO.** (2007).Date palm production. www.fao.org/docrep/t0681E//t0681E00.htm.
- Favier A.** (2003) Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108-115.
- Favier J.C., Ireland R.J., Laussucq C. et Feinberg M.** (1993). Répertoire général des aliments. Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III, Ed. ORSTOM , Lavoisier, INRA. 27-28 p.
- Fernandez M., Pedro J R. and Seoane O.** (1983).Two polyhydroxystilbenes from stems of *Phoenix dactylifera* .*Phytochem.***22** (12): 2819-2821.
- Frankel E. N., Huang S.W., Kanner J. and German J. B.** (1994) Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs. emulsions. *J. Agric. Food .Chem.* **42**:1054-1059.
- Frankel E. N., Water house A. L. and Teissedre P. L.** (1995).Principal chemicals in selected Californian wines and their antioxidant activity in inhibition oxidation of human low density lipoprotein. *J.Agric. Food. Chem.* **43**:221-235 .
- Ghazi F et Sahraoui S.** (2005). Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de datte communes Tantboucht et Hamraia, Mémoire d'ingénieur en agronomie, El Harrach.45p
- Gilles P.** (2000). Cultiver le palmier dattier .Ed. CIRAS. p 110.
- Girard J.** (1965). L'évolution de la datte au cours de sa croissance et sa maturation. In : Compte rendu des travaux de recherches effectuées à la station d'El-Arifiane. 30 p
- Goupy P., Hugues M., Boivin, P. et Amiot, M. J.** (1999) Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and isolated phenolic compounds. . *Sci. Food Agric.* **79**: 1625-1634
- Gualtieri M. and Rapaccini S.**(1994). Date stones in broiler's feeding. In : Technologie de la datte. Ed .GRIDAO.Monpellier. 35 p.
- Guignard J.** (1996). Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris. pp 175-192 p.

- Guignard J.** (2001). Botanique systématique moléculaire, 2^{ème} édition Lavoisier, Paris. p.122
- Graven E.H., Deans S.G., Svoboda K.p., Mavi S. and Gundidza M.G.** (1992). antimicrobial and antioxydative properties of the volatile (essential) oil of *Artemisia afra* jack. *Flav .fragr. J.* **7**(3):121-123.
- Gross J., Habero O. and Ikan R.** (1983). The carotenoid pigments of the date. *Scientia Horticulturae.* **20**(3) :251-257.
- Haddadi H.,** (2005). Détermination de l'activité antioxydante de quelques fruits. Mémoire de magister. Université de Béjaïa (FSNV), 76 p.
- **Hadi M.** (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Mémoire doctorat. option Pharmacochimie. Université Louis Pasteur. Strasbourg.155 p.
- Häkkinen S.** (2000). Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Mémoire doctorat. KUOPIO. Finlande. 93 p.
- Hannachi S., Khitri D., Benkhalifa A. et Brac de Perrière R.A.** (1998). Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Ed. Anep. Rouiba, Alger. 225 p.
- Harbone J B.** (1967). Comparative biochimitry of the flavonoides. Academic press. New York. 1-130 p.
- Harris R S. and Karmas E.** (1977). Nutritional evaluation of food processing , 3rdEd. The Avi Publishing company Inc, New York. 612p
- Hayase F and Kato M.** (1984). Antioxydant compounds of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. vitaminol.* **30**: 37-46.
- Hemingway R W.** (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. in chemistry. Ed.Hemingway and Karchesy, Plenum Press, New York. pp 503-515 .
- Henk J., Zwir E. et Rik, L.** (2003). Caroténoïdes et flavonoïdes contre le stress oxydatif. *Arômes Ingrédients Additifs.* **44**: 42-45.
- Hilliard J. J., Krause H. M. and Bernstein J. I.** (1995) A comparison of active site binding of 4- quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Adv. Exp. Med. Biol.* **390** : 59-69.

- Hong Y. J., Tomas-Barberan F. A., Kader A. A. and Mitchell, A. E.** (2006). The flavonoid glycosides and procyanidin composition of Deglet Noor dates (*Phoenix dactylifera*). *J. Agric. food chem.***54**: 2405-2411.
- Hurst W J.** (2008). Methods of analysis for functional food. 2nd edition. CRC Press. Taylor and Francis. London. p 548 .
- Imad A., Ahmed A. W. and Ahmed K.** (1995). Chemical composition of date varieties as influenced by the stage of ripening. *Food Chem.***54**: 305-309.
- Jaccot B. et Campillo B.** (2003). Nutrition humaine. Ed. Masson, Paris. p 311 .
- Katarzyna U., Anna M., Marta M., Joanna J.B. and Grzegorz W.** (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia.* **62** (2) : 132-135.
- Kendri S.** (1999). Caractéristiques biochimiques de la biomasse "*Saccharomyces cerevisiae*" produite à partir des dattes "Variété Ghars". Mémoire d'Ingéniera. Département d'agronomie. Batna. 51 p.
- Khalil K.E., Abd-El-Bari M.S, Hafiz .N.E. and Ahmed E.Y.** (2002). Production, evaluation and utilization of date syrup Concentrate (Dibis). *Egypt. J. Food Sci,* **30**(2): 179-203.
- Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and Vladimir-Knez EICS.** (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm.***54**:65-72.
- Lebham.** (2005). Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM)- Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. and Lee C.Y.** (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chem.* **51** : 7292-7295.
- Liolios C.C., Sotiroudis.G.T., Chinou.I.** (2009). Fatty acids, sterols, phenols and antioxidant activity of *Phoenix theophrasti* fruits growing in Crete, Greece. *Plant Foods Hum Nutr.***69**:52-61.
- **Lugasi A, Hovari J, Sagi, K V. and Biro L.** (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegedensis.***1-4**: 119-125.

- Mabry T and Ulubelen A.** (1980). Chemistry and utilization of phenylpropanoïdes including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem.* **28**: 188-196.
- Macheix J. J., Fleuriet A. and Billot J.** (1990). Fruit phenolics .boca raton . CRC Press. 378p.
- Mahmoud N., Pizza C. and Aquino R.** (1993) Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antivir. Res.* **46** (7): 1257-1271.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remezy C. and Jimenez L.** (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *J. Am. Clin. Nutr.* **79** (5): 727-747.
- Mansouri A., Guendez E., Kokkalou E. and Kefalas P.** (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of Algerian ripe date palm (*Phoenix dactylifera*). *Food. Chem.* **89**:411-420.
- Masmoudi N.** (2000). Essai de production de biomasse "*Saccharomyces cerevisiae*" à partir des dattes "Ghars". Mémoire d'Ingénieur. Département d'agronomie. Batna. 52 p.
- **Masquelier J., Dumon M et Dumas J.** (1979). Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique.* **1** : 101-104 p.
- Matallah M.**(2004). Contribution à l'étude de la conservation des dates variété Deglet-Nour : Isotherme d'adsorption et de désorption. Mémoire d'Ingéniera, INA. El-Harrach. Alger. 79 p
- **Meddleton E. and Kardasnam J C.** (1993). The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London. pp 617-652 .
- **Medic Sanic M., jasprica I., Smolcic Bubalo A . and Mornar A.** (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids. *Croatia chemica acta.* 361-366 .
- Morelle J.** (2003). L'oxydation des aliments et la santé. Ed. Nouvelle Imprimerie Laballery, Paris. p 250.
- Moroh J.L.A., Bahi C., Dje K., Loukou Y.G. et Guede-Guina F.** (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*. *Bull. Soc. Royale . Sci. Liège.* **77** : 44 –61.
- **Munier P.** (1973). Le palmier dattier. Ed. Maison Neuve et La rose, Paris. pp 25-28-31-32-40-48-141-142-221-367 .

- Nacz M.and Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. and Biomed. Anal.* **43**(2):798.
- Nezam El-din A.M.and Ali L.M. (1982). Study on the pigment contents of some varieties of date. *J. Res .for .Agric .Water Res. (Iraq)*, (2): 1.
- Noui Y. (2001). L'optimisation de la production de la biomasse « *saccharomyces cerevisiae* » cultivé sur un extrait de datte. Mémoire d'ingénieur. Département d'agronomie. Batna. 62p.
- Noui, Y. (2007). Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Mémoire de Magister en génie alimentaire, Université de Boumerdès.33p.
- Novelli G. P. (1997) .Role of free radicals in septic shock. *J .Physiol. Pharmacol.* **48**: 517-527.
- Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M .and Takahara Y. (1993). Antioxydant activity of tannins and flavonoids in *Eucaliptus rostarata*. *Phytochimie.* **33** : 557-561 .
- Okuda T., Kimura Y., Yoshida T., Hatano T., Okuda H .and Arichi S. (1983). Studies on the activitis of tannins and related compounds from medicinal and drugs. Inihibitory effects of lipid peroxydation in mitochondria and microsome of liver. *Chem. Pharm. Bull.* **31**: 1625-1631.
- Ould El Hadj M.D., Sebihi A.H. et Siboukeur O. (2001). Qualité hygiénique et caractéristique physico-chimique du vinaigre traditionnel de quelques varietes de dattes de la cuvette de Ouargla. *Revue Energie Renouvelable* : Production et Valorisation-Biomasse. 87-92p.
- Owen P.L. and Johns, T., (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *J. Ethnopharmacol.* **64**: 149-160.
- Packer L. (2001). flavonoïds and other polyphenols. Ed Academic press, California.483p.
- Perret C. (2001). Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cineria*. Thèse de doctorat en science .Université de Neuchâtel. Suisse .184 p.
- Quinten M. (1996). Diversité et structure génétique des populations algérienne de *Fusaium oxyporum* agent de la *fusariose vasculaire (bayoudh)* du palmier dattier, Mémoire de doctorat, El Harrach, Alger. 52 p.

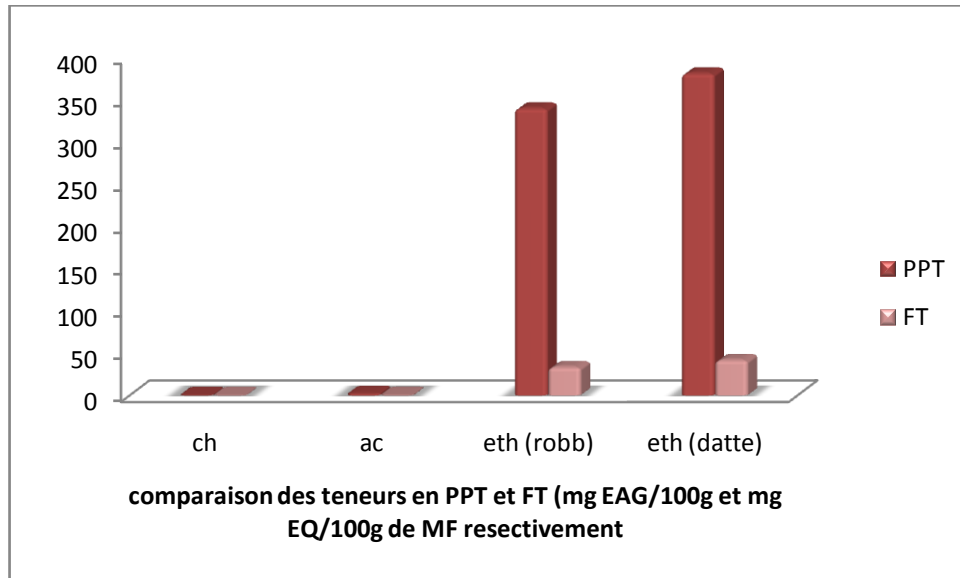
- Rahal A.** (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4^{ème} édition, Alger. 116 p.
- Rastija V. and medic M.** (2009). QSAR study of antioxidant activity of wine polyphenols. *Eur. J. Med. Chem.* **44**:400-408
- Ravn H., Andary C., Kovacs G. and Molgaard P.** (1984). Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochimie. Syst. Ecol.* **17** :175-184 .
- Ribereau G P.** (1964). Les composés phénoliques du raisin et du vin. *Ann. Physiol. Veg.*, **6** :211-242
- Ribereau-Gayon P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris. p 254.
- Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P. et Ribereau-Gayon P.** (1972). Sciences et techniques du vin. Tome 1. Ed. Dunod. Paris. 671 p.
- Riedacker A.** (1990). Physiologie des arbres et arbustes en zone aride, Ed .J. Libbey, Paris. 323-327 p.
- Roberfroid M.** (2002). Aliments fonctionnels. Ed. Tec & Doc-Lavoisier, Paris. 308p.
- Rodriguez Vaquero M. J., Alberto M. R. and Manca de Nadra M. C.** (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control.* **18**: 93-101.
- Rolland R.** (2004). Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux Corps Gras et Lipides.* **11** (6) : 419-424.
- Rygg L.** (1946). Compositional changes in the date fruit during growth and ripening. USDA, Tech Bull. 51p
- Scalbert A. and Williamson G.** (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphénols. *J Nutr.* **130**: 2073-2085 .
- Sharififar F., Dehghn-Nudeh G. and Mirtajaldini M.** (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium*. *Food Chem.* **112**:885-888
- Siboukeur O.** (1997). Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Memoire de Magister, INA. El-Harrach, Alger. 106 p.

- Singleton V.L., Orthofer R .and Lamuela-Raventos R.M. (1999).Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin-Ciocalteu reagent . In: Jones, L.(ed). Methods in enzymology. San Diego.CA: Academic Press.**99**:152-178.
- Stavric B .and Matula T. (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. Ong.A.S.H. Packer.Eds Birkhauser. Basel. Switzerland. pp 274-294 .
- Sundus H A. (2009). Antioxidant Properties of Water Extracts for the Iraqi Plants *Phoenix Dactylifera*, *Loranthus Europeas*, *Zingiber Officinalis* and *Citrus Aurantifolia*.*Modern Applied. Sci.* **3**:30-40.
- Toutain G. (1979). Eléments d'agronomie saharienne et la recherche au développement. Imprimerie Jouve, Paris. 277 p.
- Toutain G. (1996). Rapport de synthèse de l'atelier "Techniques culturales du palmier dattier". In :Options méditerranéennes, série, N° 28. Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens. Ed. IAM, Zaragoza, Spain. pp 201-205.
- Touzi A.1997. Valorisation des produits et sous-produits de la datte par les procédés biotechnologiques. Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte", CIHEAM - Options Méditerranéennes . 214 p.
- Valsaraj R., Pushpangadan P. and Smitt U. W . (1997) New anti-HIV-1, antimalarial, and antifungal compounds from *Terminalia bellerica*. *J. Nat. Prod.* **60**: 739-742.
- Vermerris W. and Nicholson R. (2006). Phenolic compounds biochemistry. Ed Springer, Gainesville.USA. 285p.
- Vergé S., Soulet S., Lacan F. et Mas T. (1999). Les polyphénols du vin : de la chimie pour la vie. *Bull. Soc. Pharm.* **138** : 75-90
- Wachter G. A., Hoffmann J. J., Furbacher T., Blake M. E.and Timmermann B. N. (1999) Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochemistry.* **52** : 1469-1471.
- Wanasundara R., Amarowicz F., Shahidi., and J.Agric.(1994).Isolation and identification of an antioxydative component in canola meal.*J.Food .Chem* .**42**: 1285.
- Wu X., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., Gebhardt S. and Prior R. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Agric. Food Chem.* **52** :4026–4037.

- **Yahiaoui K.** (1998). Caractérisation physico-chimique et évolution du brunissement de la datte « D-N » au cours de la maturation. Mémoire de Magister. I.N.A. El-Harrach. Alger.66p.

Annexes

Annexe des figures



Annexe

Composition du milieu MH :

Extrait de viande de bœuf : 2.0g ;

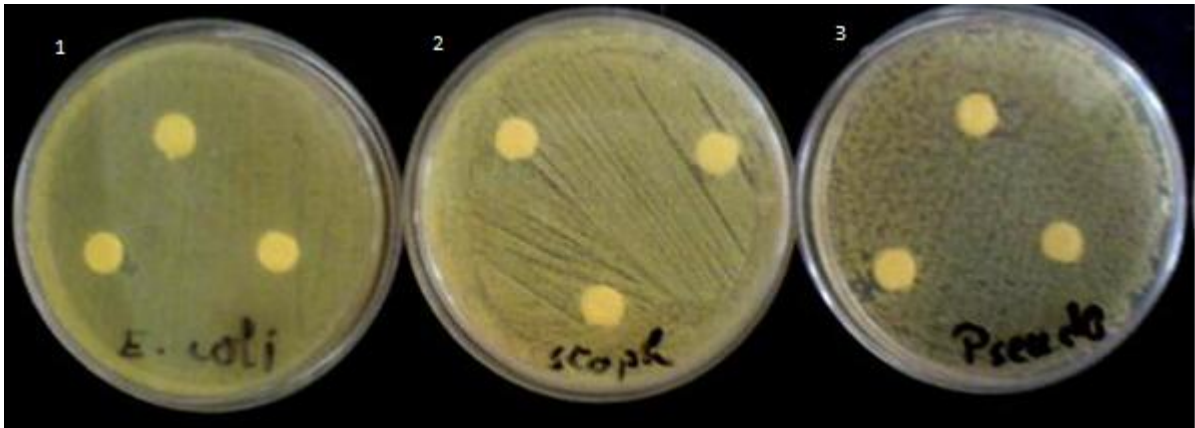
Peptone de caséine : 17.5g ;

Amidon de maïs : 1.5g ;

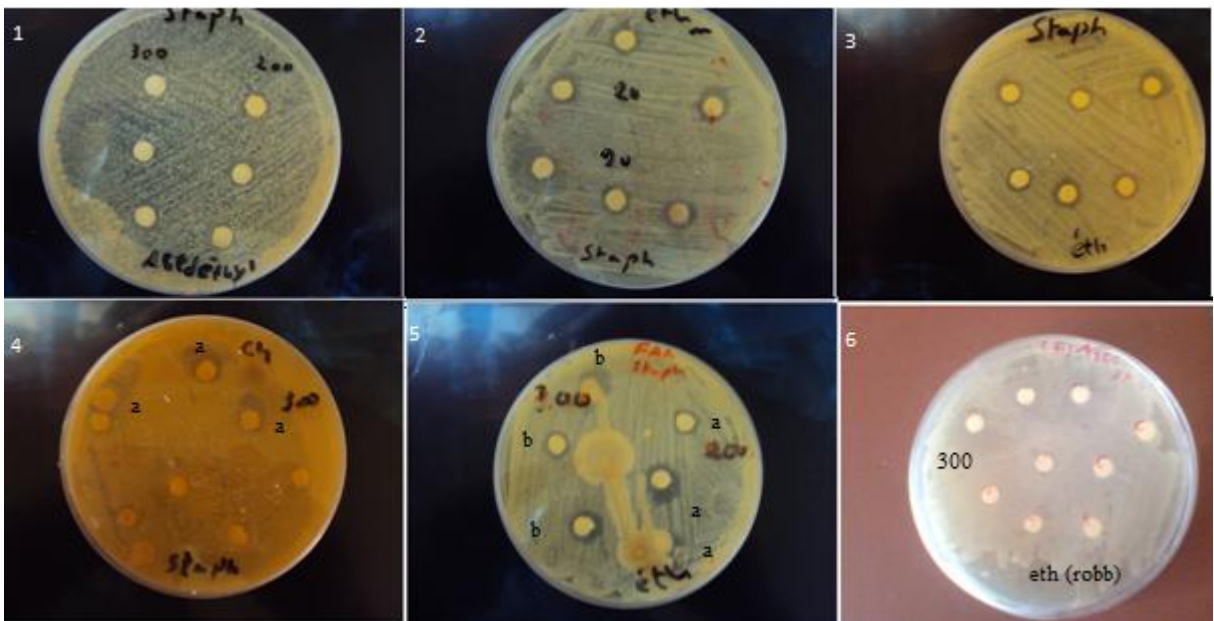
Agar : 17.0g ;

pH : 7.4.

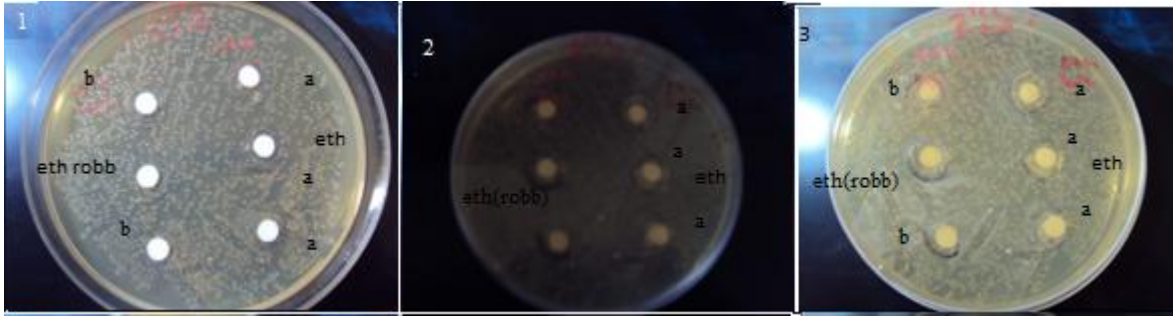
Annexe des Photos de l'activité antibactérienne



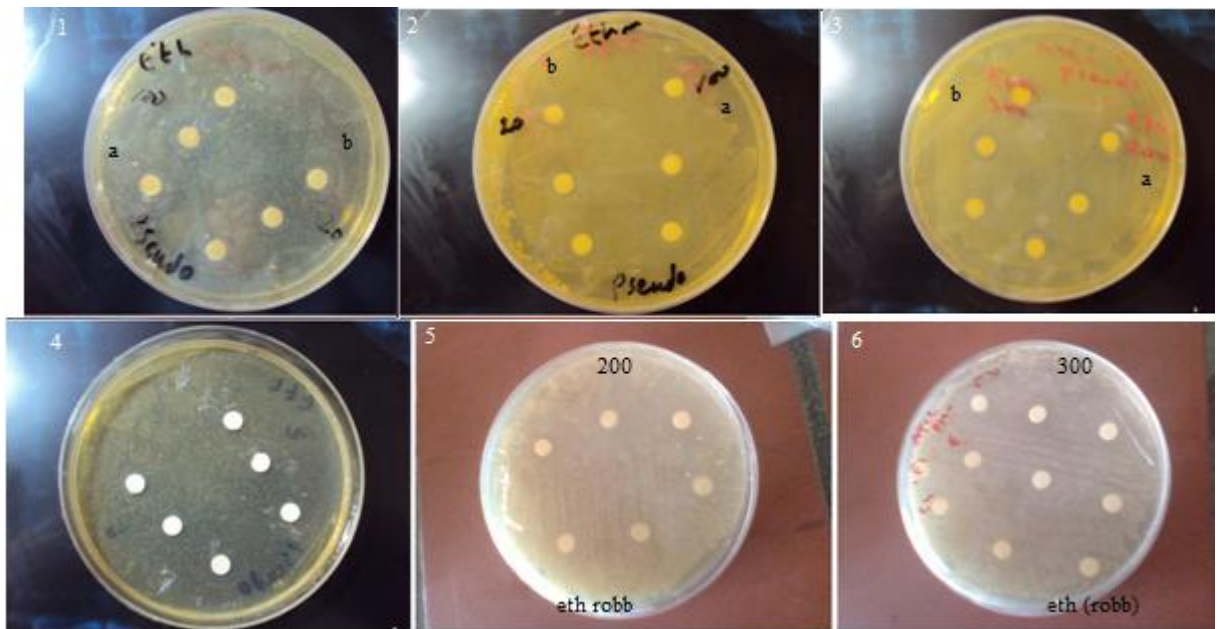
Effet du DMSO sur les trois souches testées : 1-*E.coli*, 2 -*Staphylococcus aureus*, 3-*Pseudomonas aeruginosa*.



Effet des extraits de datte sur la souche *Staphylococcus aureus* : 1- ac (200 et 300ug/ml), 2 et 3 eth (datte et robb) (20ug/ml), 4- ch (300ug/m), 5-6 eth (datte et robb) (200 et 300ug/ml)



Effet des extraits de dattes sur la souche *Escherichia coli* : 1 –eth (dattes a et robb b) 100ug/ml, 2- eth (dattes a et robb b) 200ug/ml, 3- eth (dattes a et robb b) 300ug/ml.



Effet des extraits de dattes sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* : 1-4 eth (dattes) 20 et 100ug/ml, 2- eth (robb) 20 et 100ug/ml, 3- eth (dattes) 200et 300ug/ml., 5- eth (robb) 200ug/ml, 6-eth (robb) 300ug/ml.

ملخص

Phoenix dactylifera L. (دقلة نور) نبات صحراوي ذو ثمار قابلة للاستهلاك. تحصلنا على المستخلصات بنقع الثمار في مذيبات ذات قطبية تصاعديّة: الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول. كان المردود 0.03، 0.14، 11.8، 16.02 % (ك/ك) على التوالي. تم تحديد كمية الفينولات الكلية باستعمال متفاعل Folin-Ciocalteu حيث وجد 0.552، 2.492، 339.84 و 381.27 ملغ مكافئ حمض الغاليك/ 100 غ مادة طازجة. بالنسبة لمستخلصات الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول (روب وتمر) على التوالي قدرت الفلافونويدات بطريقة $AlCl_3$ وجدنا: 0.45، 0.67، 33.39، 41.76 ملغ مكافئ الكرسيتين/ 100 غ مادة طازجة في مستخلصات الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول (روب وتمر) على التوالي. قدرت الفلافونولات و الفلافونات ما بين 0.157 و 24.67 ملغ مكافئ الكرسيتين/ 100 غ مادة طازجة. ينحصر النشاط المضاد للأكسدة المقدر بطريقة البيتا كاروتين/حمض اللينوليك ما بين 33 و 55% وهو قريب من نشاط الشاهد BHA (55%) عند تركيز 2 ملغ /مل. كانت قيم IC_{50} المعبرة عن النشاط المضاد للجدر الحر 2، 2، ثنائي فينيل -1- بيكريل هدرأ زهلي (DPPH) 924، 715.91، 64.84 و 55.6 ميكروغرام/ملل بالنسبة لمستخلصات الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل و الإيثانول (روب وتمر) على التوالي بينما الخاصة بـ BHT 37.31 ميكروغرام /ملل. أبدى اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على 3 سلالات بكتيرية غرام+ و غرام- باستعمال طريقة انتشار الأقراص تأثيرا مئبطا. كانت التراكيز الدنيا المثبطة 100، 20 و 20 ميكروغرام/ملل بالنسبة لـ: *E. coli*، *S. aureus*، *P. aeruginosa* على الترتيب.

كلمات مفتاحية :

متعدد الفينول، دقلة نور، *Phoenix dactylifera*، روب، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا.

Abstract

Phoenix dactylifera L. (*Deglet-Nour*) is a desert plant with comestible fruits. Extracts were obtained by maceration of fruits using several solvents with increasing polarity: chloroform, ethyl acetate and ethanol, the yields were: 0.03, 0.14, 11.8 and 16.02% (w/w) respectively. Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent and found to be: 0.552, 2.492, 339.84 and 381.27 mg GAE /100 g FW in chloroform, ethyl acetate and ethanol (*robb* and dates) extracts respectively. Flavonoids were evaluated by $AlCl_3$ method and shown to be 0.45, 0.67, 33.39 and 41.76 mg QE/100 g FW in chloroform, ethyl acetate, and ethanol (*robb* and dates) extracts respectively. The flavones and flavonols contents were between 0.157 and 24.67 mg EQ/100 g FW. Antioxidant activity was evaluated using β -carotene/linoleic acid system., it ranged between 33% and 55% for all extracts and seems to be closed to the BHA 55% when used at 2mg/ml. Free radical scavenging effects were evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), the IC_{50} were 924, 715.91, 64.84, 55.6 μ g/ml for chloroform, ethyl acetate and ethanol (*robb* and dates) extracts respectively, whereas BHT showed 37.31 μ g/ml. Antibacterial activity was determined using three bacterial strains (Gram+ and Gram-) according to the disc diffusion assay; all extracts have shown an inhibitory effect against the microorganisms tested. Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) were 100, 20 and 20 μ g/ml for *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* respectively.

Key words: phenolic content, *Deglet Nour*, *Phoenix dactylifera*, *robb*, antibacterial activity, antioxidant activity.

Résumé

Phoenix dactylifera L. (*Deglet-Nour*) est une plante dont les fruits sont comestibles. Les extraits ont été obtenus par macération des fruits dans des solvants à polarité croissante: le chloroforme, l'acétate d'éthyle et l'éthanol, les rendements étaient de: 0.03, 0.14, 11.8 et 16.02 % (m/m). La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de 0.552, 2.492, 339.84 et 381.27 mg EAG/100 g de MF dans les extraits chloroformique, acétate d'éthyle et éthanolique (*robb* et dattes) respectivement. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium $AlCl_3$, la teneur est estimée à 0.45, 0.67, 33.39 et 41.76 mg EQ/100 g de MF dans les extraits chloroformique, acétate d'éthyle, éthanolique (*robb* et dattes) respectivement. Le dosage des flavones et flavonols a révélé des teneurs faibles variant entre 0.157 et 24.67 mg EQ/100 g de MF. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de décoloration du β -carotène /acide linoléique en utilisant des concentrations de 2mg/ml pour les quatre extraits et varie entre 33.66 et 55.33% alors que celle du témoin positif BHA est de 55%. Quant au test anti radicalaire évalué en utilisant le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH), les IC_{50} sont estimées à 924, 715.91, 64.84 et 55.6 μ g/ml pour les extraits chloroformique, acétate d'éthyle et éthanolique (*robb* et dattes) tandis que celle du BHT est de 37.3 μ g/ml. L'activité antibactérienne a été déterminée sur trois souches bactériennes Gram+ et Gram- selon la méthode de diffusion de disque et tous les extraits ont manifesté un effet inhibiteur sur les microorganismes. Les CMI pour *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* sont 100, 20 et 20 μ g/ml respectivement.

Mots clés: Polyphénols, *Deglet Nour*, *Phoenix dactylifera*, *robb*, activité antibactérienne, activité antioxydante.