

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie des Produits Naturels*

### THEME

---

**Etude cinétique de l'inhibition de la polyphénol oxydase de datte  
Deglet nour (*Phoenix dactylifera* L.) par l'acide benzoïque**

---

**Présenté par :**

M<sup>lle</sup>. GHERASLIA Lamia

M<sup>lle</sup>. BOUASRIA Fatima Zahra

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	M. GHERMAOUI Mohamed	Maitre Assisatant Classe A	Université de Laghouat
<b>Rapporteur :</b>	M. GOUZI Hicham	Maitre de Conférences Classe A	Université de Laghouat
<b>Examineur :</b>	M. LEBOUKH Mourad	Maitre Assisatant Classe A	Université de Laghouat

**Soutenu publiquement le, 10 Juin 2017.**

## **DÉDICACE**

***Avec l'aide d'Allah, j'ai pu réaliser ce travail :***

***Je le dédie en premier lieu à mes grands-parents pour leur sacrifice pour moi.***

***Si j'en suis arrivé là, c'est grâce à eux.***

***A Mes parents mon frère et sœurs chacun a son nom,***

***Mes oncle et tantes, cousins et cousines et aussi à mes proches amis qui tous ensemble constituent mon équilibre, et mes racines.***

***A tous les profs du trajectoire de mes études***

***A mes amies : Fatima, Majda, Fadila, Meriem, Samar, Wafa, Nawel.***

***A tous mes collègues.***

***Lamia***

## **DÉDICACE**

*Les louanges sont à Allah seigneur des mondes qui ma comblé de grâce en me permettant d'achever en bonne santé ce modeste*

*travail que je dédie :*

*A ceux que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois la vie et qui n'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de m'encourager par leurs prières et leurs sacrifices : Mes cher parents ;*

*A mes deux frères ; et ma sœur ; toute ma famille*

*A ma meilleur amie Lamia GhUERASLIA*

*A mes frères et sœurs que Dieu m'a donné sur le chemin de l'aventure.*

*Fatima*

## **REMERCIEMENTS**

*Avant toute chose, nous remercions **Allah**, tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promoteur **Mr. Gouzi Hicham**, Maître de conférences qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous tenons également à exprimer nos remerciements à tous les membres du jury, désignés parmi les enseignants du département de Biologie, université de Laghouat, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions encore tous les enseignants qui nous accompagnent durant notre cycle d'étude et les travailleurs de la bibliothèque, et aussi les ingénieurs de laboratoire surtout les ingénieurs de l'agronomie chaque un à son nom pour leurs patience et leurs aide.*

*Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**Un grand merci à tous.**

**الملخص:** كان الهدف من هذا العمل دراسة حركية تثبيط نشاط البيروقالو للبوليفينول أوكسيداز لتمر دقلة نور ( *Phoenix dactylifera* L.) بواسطة حمض البنزويك كمتبط. كما توبع قياس نشاط البوليفينول أوكسيداز بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجة 333 نانومتر، و درجة حموضة 4.5، و 30° م وهذا باستخدام البيروقالول كدعامة.

نشاط البوليفينول أوكسيداز يثبط بـ حمض البنزويك بالرغم أن التراكيز ضعيفة. قيمة  $IC_{50}$  لحمض البنزويك تقدر بـ 2.47 ميليمول).

أظهرت بيانات Linerweaver-Burk أن حمض البنزويك هو مثبط تنافسي قادر على منافسة نشاط البيروقالول أوكسيداز لتمر دقلة نور مع قيمة ثابت التوازن يساوي ( 1.02 ميليمول). حمض البنزويك هو مركب كيميائي طبيعي يمكن إستعماله من أجل مراقبة التشوه الإنزيمي للتمر أثناء تخزينها وتحويلها.

**الكلمات المفتاحية:** تمر، دقلة نور، بوليفينول أوكسيداز، بيروقالول، حمض البنزويك، مثبط تنافسي.

---

**Résumé :** Ce travail avait pour objectif d'étudier la cinétique d'inhibition de l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet nour (*Phoenix dactylifera* L.) par l'acide benzoïque comme inhibiteur. L'activité enzymatique a été mesurée par spectrophotométrie à 333 nm, à pH 4.5 et à 30°C, en présence du pyrogallol comme substrat. L'activité pyrogallol oxydase est fortement inhibée par l'acide benzoïque. La valeur d' $IC_{50}$  de l'acide benzoïque estimée à 2.47 mM. La représentation de Lineweaver-Burk indique que l'acide benzoïque est un inhibiteur compétitif de l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet nour avec une valeur de  $K_i$  égale à 1.02 mM. L'acide benzoïque est un composé chimique naturel peut être utilisé pour le contrôle du brunissement enzymatique des dattes au cours de leur stockage ou leurs transformations.

**Mots clés :** datte, Deglet nour, polyphenol oxydase, pyrogallol, inhibiteur compétitif, acide benzoïque.

---

**Abstract :** This work was aimed to study the inhibition kinetic of pyrogallol oxidase activity of date Deglet nour (*Phoenix dactylifera* L.) Tul.) with benzoic acid as inhibitor.

PPO activity was measured by spectrophotometric at 333 nm (pH 4.5, 30°C) using pyrogallol as substrate. The pyrogallol activity was significantly inhibited by benzoic acid. The  $IC_{50}$  value was estimated to be 2.47 mM. The Lineweaver-Burk representation show that benzoic acid act as competitive inhibitor on the pyrogallol activity of the datte PPO with  $K_i$  value of 1.02 mM. Benzoic acid is a natural compound without a side effect, can be used efficiently for controlling enzymatic browning of datte during their storage or processing.

**Keywords:** datte, Deglet nour, polyphenol oxidase, pyrogallol, inhibition, benzoic acid.

# Sommaire

	<b>Page</b>
<b>Dédicace</b> .....	<b>I</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>III</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>IV</b>
<b>Liste des Tableaux</b> .....	<b>VII</b>
<b>Liste des Figures</b> .....	<b>VIII</b>
<b>Liste des Abréviations</b> .....	<b>IX</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	<b>3</b>
I. Le palmier dattier ( <i>Phoenixdactylifera L.</i> ).....	3
I.2 Position systématique dans le règne végétale.....	3
I.3 Répartition géographique.....	3
I.3.1 En Algérie.....	3
I.3.2 Dans le monde.....	3
I.4 Production de la datte en Algérie.....	4
II. Les dattes de la variété Deglet-nour.....	4
II. 1 Définition.....	4
II.2 Développement et maturation de la datte.....	4
II.3 Les caractéristique de deglet-nour.....	5
II.4 Composition biochimique .....	5
II.5Intérêt nutritionnel et médical.....	7
II.5.1 Intérêt nutritionnel .....	7
II.5.2 Intérêt médicinal des dattes.....	8
III. La polyphenol oxydase.....	8
III.1 Définition .....	8
III.2 Classification et nomenclature.....	8
III.3 Caractéristiques réactionnelles.....	9
III.4 Structure.....	9
III.5 Mécanisme réactionnels de la catalyse enzymatique.....	11
III.6 Source, localisation, rôle biologique et applicationsdesPPOs.....	12
III.6.1 Source et localisation .....	12
III.6.2 Rôle biologique.....	13
III.6.3 Importance de la PPO.....	14
III.6.4 Applications .....	14
III.7. Substrats phénolique et spécificité enzymatique.....	15
III.8 Mesure des activités PPO.....	16
IV. Brunissement enzymatique.....	17
IV.1 Introduction.....	17
IV.2 Contrôle de brunissement enzymatique.....	18
IV.2.1 Méthode chimique de contrôle de brunissement enzymatique.....	18
IV.2.1.1 Méthode agissant sur l'enzyme.....	19
IV.2.1.2 Méthode agissant sur les substrats .....	20
IV.2.1.3 Méthode agissant sur les produits de réaction.....	20

<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>22</b>
I. Matériel.....	22
I.1 Matériel biologique.....	22
I.2 Produits chimiques.....	22
II. Méthodes.....	22
II.1 Préparation de l'extrait brut de laPPO.....	22
II. 2 Mesure de l'activité PPO.....	23
II.3 Détermination de l'IC <sub>50</sub> de l'acide benzoïque.....	24
II.4 Effet de l'acide benzoïque sur l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet nour.....	24
II.5. Analyses des données.....	25
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>26</b>
I.Détermination de la valeur IC <sub>50</sub> de l'acide benzoïque .....	26
II. Etude cinétique de l'inhibition de la PPO des dattes Daglet-Nour par l'acide benzoïque.....	27
<b>Conclusion.....</b>	<b>31</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>32</b>

	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b> : Inhibiteurs de brunissements enzymatique .....	19
<b>Tableau 02</b> : Les valeurs de $K_m$ , $V_{max}$ et $K_i$ de la PPO des dattes Deglet-Nour avec le pyrogallol comme substrat en présence et en absence d'acide benzoïque.....	28

	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b> : Coupe longitudinale d'une datte .....	04
<b>Figure 02</b> : Quelques produits de dattes, de haut au bas et de gauche .....	07
<b>Figure 03</b> : Réaction catalysées par la polyphénol oxydase .....	09
<b>Figure 04</b> : Les trois domaines structuraux de l'hémocyanine d'arthropodes.....	10
<b>Figure 05</b> : L'état Oxydu site actif d'hémocyanine de <i>Limuluspolyphemus</i> .....	10
<b>Figure 06</b> : Vue à l'intérieure du site actif d'hémocyanine de <i>Limulus polyphemus</i> .....	11
<b>Figure 07</b> : Schéma mécanistique de l'activité catécholase et créolase de la PPO.....	12
<b>Figure 08</b> : Structure de quelques composés phénoliques substrats de la polyphénol oxydase.....	16
<b>Figure 09</b> : La formule développée de l'acide citrique.....	21
<b>Figure 10</b> : Les dattes deglet noir d'algerie.....	22
<b>Figure 11</b> : Reaction d'oxydation du pyrogallol par la PPO.....	23
<b>Figure 12</b> : Exemple de détermination de la vitesse initiale d'oxydation du pyrogallol par la PPO...	24
<b>Figure 13</b> : Effet de la concentration de l'acide benzoïque sur l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet noir ( <i>Phoenix dactylifera</i> L.) (pH 4.5 (tampon acétate de sodium à 0.05 M ); 30°C ; 40 µl de l'extrait enzymatique brut, pyrogallol à 80 mM).....	26
<b>Figure 14</b> : Les graphiques de Lineweaver-Burk de l'inhibition de l'activité de la PPO de datte Deglet noir ( <i>Phoenix dactylifera</i> L.) sur le pyrogallol par l'acide benzoïque. ....	29

**ESI** : Complexe Enzyme-Substrat-Inhibiteur

**EI** : Complexe Enzyme-Inhibiteur

**K<sub>I</sub>** : Constante d'inhibition

**IC<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibiteur qui provoque une diminution de l'activité enzymatique initiale à 50%

**PPO** : Polyphénol oxydase

**v<sub>0</sub>** : Vitesse initiale

**K<sub>m</sub>** : Constante de Dissociation du Complexe ES

**ES** : Complexe Enzyme-Substrat

**V<sub>max</sub>** : Vitesse maximale de catalyse

**DOPA** : 3,4-Dihydroxyphénylalanine

**DMSO** : Diméthyle Sulfoxyde

**°C** : Degré celcius

**MS** : Matière sèche

**EC** : Enzyme Comssion

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétracétique Acide

**CD** : Cyclodextrine

**UE** : Unité Enzymatique

# ***Introduction***

Le palmier dattier (*Phoenixdactylifera L.*) constitue l'une des espèces fruitières dont la culture existe depuis l'antiquité, quatre mille ans avant Jésus-Christ, les dattes étaient déjà connues, cultivées et commercialisées.

En Algérie les palmeraies sont situées au nord du Sahara au niveau des Oasis où les conditions de cultures leur sont favorables. Les principales régions de production sont la vallée de Mzab, les Ziban, l'Oued-Righ, Ouargla, le Souf, Béchar, Béni-ounif, la vallée de la Saoura, le Touat, Gourara, Tideklet et El-Goléa.

Il existe un grand nombre de variétés de dattier, estimé à environ 200, on peut distinguer les variétés communes (Ghars, Degla-baida, Mech-Degla, Tezerzait, Tantboucht...) et la variété Deglet-Nour. (Benchabane, 2000)

Les dattes ont été historiquement et sont encore considérées parmi les meilleurs aliments énergétiques de l'être humain. La composition à prédominance de sucre, riche en minéraux avec présence quelque protéine et vitamines offrent à la datte une assimilabilité facile par le corps humain et la qualifient pour un aliment énergétique appréciable.

Le brunissement enzymatique est le problème le plus important des dattes qui se produit au cours de développement, la récolte, traitement et le stockage. Est un phénomène largement rencontré chez les fruits et les végétaux, il est le plus souvent une réaction indésirable responsable du changement de la couleur, de l'odeur et du goût désagréable des dattes et par conséquent diminuant sa valeur nutritionnelle et commerciale.

Le brunissement enzymatique apparaît suite à l'action d'enzyme la polyphénol oxydase (PPO) qui est la principale enzyme responsable du brunissement des dattes. La (PPO) est une oxydoréductase contenant du cuivre comme groupement prosthétique (Kavrayan et Aydenir, 2001, Mayer, 2006). Cette enzyme est généralement présente dans la plupart des tissus végétaux (Vamos-Vigyazo, 1981 ; Zawitsouki et al, 1991 ; Sherman et al, 1991 ; Fraignier et al, 1995 ; Haruta et al, 1999). En présence de l'oxygène, la PPO catalyse l'hydroxylation de monophénols aux o-diphénols (l'activité créolase) et l'oxydation des o-diphénols en o-quinones correspondants (l'activité catécholase) (Robb, 1984) qui se polymérisent pour former un colorant brun ou noir appelé mélanine (Vroquaux, 1978)

Le contrôle de l'activité de la PPO est important pour la prévention du brunissement enzymatique par des inhibiteurs chimiques. Des centaines de composés ont été examinés comme des inhibiteurs du brunissement enzymatique (Whitaker et Lee, 1995). Ils ne doivent pas être toxiques, et ne doivent pas modifier le goût, la saveur ou la texture du produit (Vamos-Vigyazo, 1981)

L'acide benzoïque est parmi les acides organiques les plus utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme conservateurs. Certains rapports ont été consacrés sur l'étude de l'inhibition de la PPO de différentes sources par l'acide benzoïque comme un anti-brunissement.

D'après nos connaissances l'inhibition de la PPO de datte Degletnour d'Algérie par l'acide benzoïque n'a pas été réalisée en utilisant le pyrogallol comme substrat. Pour cela l'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'effet inhibiteur de l'acide benzoïque sur l'activité pyrogallol oxydase la PPO de datte et de déterminer son mécanisme d'inhibition.

Ce manuscrit est organisé en trois grandes parties. La première partie concerne une revue bibliographique sur la datte deglet-nour et la PPO. La deuxième partie décrit les procédures expérimentales utilisées pour atteindre les objectifs. La quatrième partie est dédiée à une discussion des résultats expérimentaux conduits lors de ce mémoire.

# ***Synthèse bibliographique***

### I. Le palmier dattier (*Phoenixdactylifera L.*)

#### I.1 Définition

Le palmier dattier : *Phoenixdactylifera L.*, provient du mot « *Phoenix* » qui signifie dattier chez les phéniciens, et *dactylifera* dérive du terme grec « *dactulos* » signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit. (Djebri, 1994) C'est une espèce arborescente connue pour son adaptation aux conditions climatiques trop sévères des régions chaudes et sèches (Bouguedri, 1994).

#### I.2 Position systématique dans le règne végétale

Dans le règne végétal, le palmier dattier est classé :

**Groupe :** Spadiciflores

**Ordre :** Palmale

**Famille :** Palmacées

**Sous famille :** Coryphoidées

**Tribu :** Phoenicées

**Genre :** Phoenix

**Espèce :** *Dactylifera L* (Djebri, 1994)

#### I.3 Répartition géographique

##### I.3.1 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%, Adrar 22%, El-oued 21% et Ouargla 15% (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).

##### I.3.2 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 datte principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche (Toutain, 1996).

Aux Etats-Unis d'Amérique, le palmier dattier fut introduit au XVIIIème 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 généralement cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine et en Australie (Matallah, 2004).

### I.4 production de la datte en Algérie

Plusieurs variétés de dattiers estimées à environ 200 existent en Algérie. Les cultivars sont le fruit de la sélection paysanne, ils sont qualifiés de "variétés locales". Plusieurs cultivars, font la fierté de nos palmeraies, DegletNourpour sa haute qualité et son appréciation à travers le monde, BentQbala donnant des dattes de qualité exceptionnelle dans le Mزاب, Tagerboucht pour sa résistance au Bayoud, DegletJdir pour sa productivité et la grosseur de ses fruits, Ferrana, ChikhMhammed, Warglia, Ammeri, Abdel Azzaz pour leur précocité (Hannachi et al ; 1998).

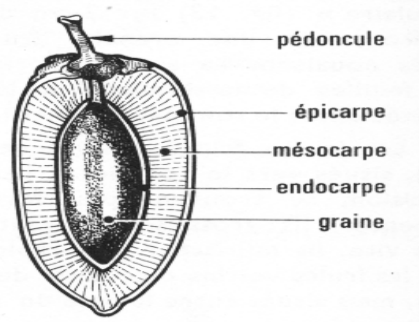
La Deglet-Nourqui fait l'objet de ce travail, est une Variété commerciale par excellence alors que Les variétés communes sont de moindre importance économique et dont les plus répandues sont : Ghars, Degla-Beïda et Mech-Degla.

## II. Les dattes de la variété Deglet-nour

### II. 1 Définition

La datte est le fruit du palmier dattier .La datte est constituée de deux parties une partie non comestible « noyau »et une partie comestible « pulpe ou chair ».

La partie comestible de la datte est constituée d'un péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau. Un mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue et un endocarpe de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau (Figure 01).



**Figure 01** : Coupe longitudinale d'une datte (Richard, 1972).

### II.2 Développement et maturation de la datte

Pendant sa formation et sa maturation, le fruit passe par un certain nombre de phases, se résumant en quatre stades appelés par leurs dénominations arabes : kimri, khalal, routab et tamar (Booij et al., 1992).

On peut distinguer différents stades d'évolution de la datte (Al-Shahib et Marshall, 2003 ; Sawaya et al, 1983) ; chaque stade porte une appellation particulière selon les pays. En Algérie se sont : Loulou, Khlal, Bser, Martouba et Tmer ; cependant, la majorité des auteurs ont adopté la terminologie utilisée en Irak et de nombreux pays arabes.

### Stades de maturation des dattes

Les différents stades de maturation des dattes peuvent être définis comme suit Bounoune, Loulou Ce stade commence juste après la fécondation et dure environ cinq semaines. A ce stade, le fruit est entièrement recouvert par le périgone et se caractérise par une croissance lente (Djerbi., 1994).

*Blah, Khalal ou Kimri* : Ce stade dure sept semaines environ et se caractérise par une croissance rapide en poids et en volume des dattes. Les fruits ont une couleur verte vive et un goût âpre à cause de la présence des tanins (DJERBI., 1994).

*Bser ou souffar* : Les sucres totaux atteignant son maximum en fin du stade. La couleur verte vire au jaune, au rouge et au brun. La datte atteint son poids maximal au début de ce stade. Il dure en moyenne quatre semaines (Djerbi., 1994).

*Nokar, Routab ou Martouba* : La couleur jaune ou rouge du stade khalal passe au foncé ou au noir. 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 sur l'épicarpe du fruit et l'augmentation de la teneur des monosaccharides qui donne un goût sucré au fruit. Ce stade dure de deux à quatre semaines (Djerbi., 1994).

*Tamr ou Tamar* : 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 (Djerbi., 1994).

### II.3 Les caractéristique de deglet-nour

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 ).

### II.4 Composition biochimique

La datte est constituée d'une partie charnue, la chair ou la pulpe et d'un noyau. C'est un fruit de grande valeur alimentaire et très énergétique, elle fournit des calories 4 à 5 fois supérieure à celles fournies par d'autres fruits (Munier, 1973).

D'une manière générale, la teneur moyenne en eau des dattes varie de 10 à 40% de poids frais, ceci la classe parmi les aliments à humidité intermédiaire (Estanove, 1990). La teneur en sucres varie généralement en fonction de la variété, de la consistance et des stades de maturation. Elle est comprise entre 50 à 80% de la pulpe fraîche pour les sucres totaux avec des proportions qui peuvent atteindre jusqu'à 60% du poids de la pulpe fraîche en saccharose et 17 à 80% pour les sucres réducteurs (Siboukeur, 1997). Le contenu en sucres totaux de la datte varie entre : 44 et 88% du poids de la pulpe fraîche (Al-Shahib et Marshall, 2003).

De façon générale les dattes molles sont caractérisées par une teneur élevée en sucres réducteurs (glucose, fructose) et les dattes sèches par une teneur élevée en saccharose (Noui, 2001). 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). Les dattes présentent des teneurs faibles en composés protidiques, généralement moins de 3% (MS) (Khallil et al., 2002 ; Besbes et al., 2009).

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. La datte renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 1,9 % du poids frais (Djouab, 2007), Yahiaoui (1998) a étudié la composition en acides gras qui se trouvent dans la variété DegletNour, celle-ci est comprise entre 7 et 13%. La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux et oligo-éléments essentiellement le potassium (plus de 670 mg aux 100 g), en calcium (62 mg) et en magnésium (58 mg), ainsi qu'en fer (3 g). Elle renferme également du cuivre, zinc et manganèse. (Frenot et Veirling, 1997)

Il a été trouvé que la datte est pauvre en vitamine C (Ahmed et al., 2014) mais riche en complexe vitaminique B, telles que B1, B2, B3, B5, B6 et B9 ainsi qu'en vitamine K (Al-Farsi et Lee 2008). Il est à noter que la B3, B5, B6 et la B9 se trouvent en plus grande concentration dans la datte comparée à d'autres fruits comme les pommes, les oranges et les baies (Siddiq et Greiby, 2014).

La datte renferme des 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 (Mansouri et al., 2005)

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 chaînes 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).

### II.5 Intérêt nutritionnel et médical

#### II.5.1 Intérêt nutritionnel

Des sous-produits variés peuvent être obtenus de la datte . En effet, les dattes sont traditionnellement utilisées pour préparer une grande gamme de produits tels que les jus de dattes concentrés (Robb et d'autres) et les pâtes pour différents usages boulangerie et confiserie et préparations pâtissière en plus de leur consommation directe. Les dattes sont commercialisées entières, dénoyautées, coupées en petits morceaux ou macérées (Yahia et Kader, 2011). Les industries de transformation des dattes fabriquent une variété de produits tels que les sirops, miels, confitures, vinaigre, alcool, pectines et fibres alimentaires (Photos 2) (ElShaarawy et al., 1989; Ramadan et al., 1995; Al-Hooti et al., 2002 ; Ahmed et Ramaswamy, 2006)



**Figure 02 :** Quelques produits de dattes, de haut au bas et de gauche à droite : jus, sirop, pâte, cornichons, beurre, barres, et confiture (Tang et al., 2013)

### **II.5.2 Interet 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).

## **III. La polyphenol oxydase**

### **III.1 DEFINITION**

La polyphénol oxydase également connue sous le nom de tyrosinase, polyphénolase, phénolase, créolase, catécholase ou ortho-déphénol oxydase est largement trouvée dans la nature ( Vamos-Vigyazo, 1981 ;Whitaker, 1994, 1996). La PPO est présente chez quelque bactérie et mycètes et dans la plupart des végétaux (Sapers, 1993) .

Les polyphénoloxydasereprésentent un groupe d'enzymes qui catalysent l'oxydation de composés phénolique, en faisant intervenir l'oxygène moléculaire, en quinones, qui par la suite se polymérisent spontanément pour former des polymères bruns, responsables de la coloration brune, le souvent indésirable observée sur les fruits et légumes endommagés( Cheftel et Cheftel, 1971).

### **III.2 CLASSIFICATION ET NOMENCLATURE**

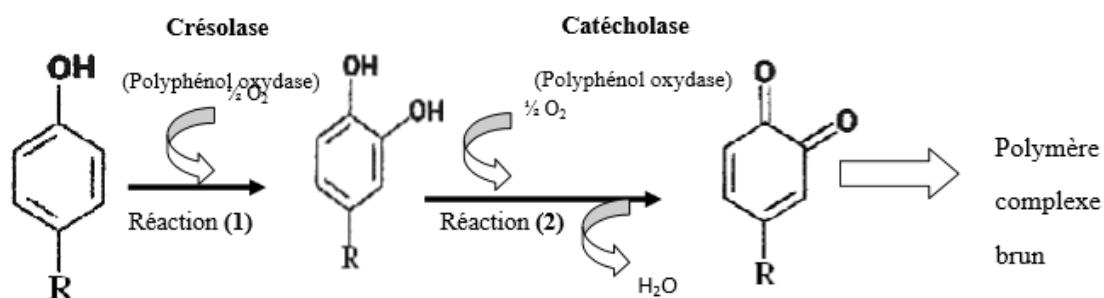
La commission sur les enzymes de l'Union Internationale de la Biochimie (IUB) a mis à jour la nomenclature et a placé la PPO dans deux catégories principales comme EC 1.14.18.1- monophénol monooxygénase, également connue sous le nom de tyrosinase. Cette catégorie était précédemment réservée à EC 1.10.3.1 o-diphénol oxydase et EC 1.10.3.2 p-diphénol oxydase ou laccase, et aussi EC 1.10.3.2 o-diphénol : O<sub>2</sub> oxydoréductase. Cette classification différencie seulement les deux activités créolase et catécholase, de la même enzyme (Mayer, 1987 ; Zawistowski et al., 1991).

### III.3 Caractéristiques réactionnelles

Les polyphénols oxydase sont divisés en deux sous-groupes en fonction du substrat dont elles catalysent l'oxydation (Cheriot, 2007).

Deux réactions différentes sont caractérisées : il y a dans un premier temps la transformation de monophénol en o-diphénol( catéchol)(activité monophénoloxydase, créolase ou tyrosinase) (EC 1.14.18.1)

Et dans un deuxième temps la transformation de o-diphénol en o-quinone (activité diphénoloxydase, catécholase ou catécholoxydase )(EC 1.10.3.1)



**Figure 03 :** Réaction catalysées par la polyphénol oxydase : (Réaction 1) Hydroxylation de monophénol en o-diphénol. (Réaction 2) Oxydation d'o-diphénolen o-quinone (Crumière, 2000 ; Burton, 1994 ; Van Gelder et al., 1997)

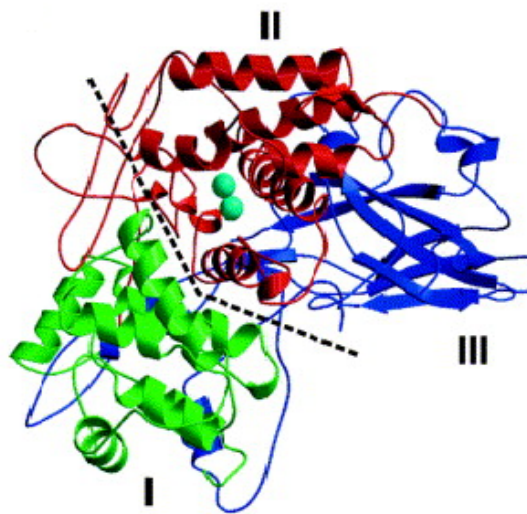
### III.4 Structure

La structure cristallographique de la PPO est supposée similaire à celle les hémocyanines (protéine oligomérique servant au transport de l'oxygène chez les invertébrés, dont le site actif contient du cuivre) et des catécholoxydases possèdent des sites actifs de structures comparables (Claus et Decker, 2006) ces enzymes possèdent des propriétés spectroscopiques et chimiques comparables (Himmelwright et al., 1980), et des similitudes de séquences primaires (VanGelder et al., 1997).

La PPO a un site actif semblable à celui de l'oxyhémocyanine (Rodakiwicz-Nowak et Ito, 2003 ; Baldwin et al., 1992). Les auteurs s'accordent pour donner une masse moléculaire apparente de 40 à 45 kDa pour les formes monomérique (deRigal, 2001).

Les domaines structuraux des PPOs des végétaux supérieurs et fongiques sont schématisés sur la figure (03).La PPO est une métalloenzyme vraie contenant une paire de cuivre, qui est le site actif d'interaction avec l'oxygène et le substrat phénolique. Ce type de site actif à cuivre est désigné sous le nom de « cuivre type 3 » et est trouvé également chez les hémocyanines, la laccase, l'ascorbate oxydase et la céruloplasmine (Mayer et Harel, 1991 ; Turner, 1974).

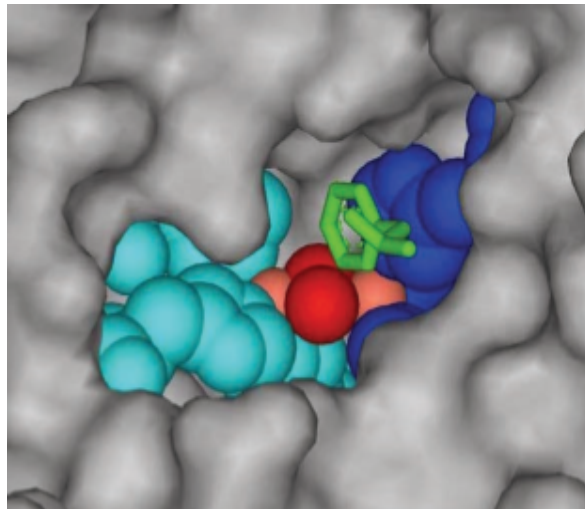
La paire de cuivre (CuA et CuB) du site actif est coordonné par trois résidus histidine fournis par les quatre hélices  $\alpha$  figure (4). Le CuA est coordonné par l'His 88, His 109, et l'His 118. L'His 88 est situés au milieu de l'hélice  $\alpha_2$ , tan disque l'His 109 et His 118 sont au début et au milieu de l'hélice  $\alpha_3$ . Le second cuivre, CuB, est coordonné par l'His 240, His 244 et l'His 274. Ces résidus d'histidine sont localisés au milieu d'hélices  $\alpha_6$  et  $\alpha_7$  (Klabunde et al., 1998). La paire de cuivre (CuA et CuB) est le site de l'intersection de la PPO avec l'oxygène moléculaire et ses substrats phénoliques (Van Gelder et al., 1997).



**Figure 04 :** Les trois domaines structuraux (I, vert ; II, rouge ; et III bleu ) de l'hémocyanine d'arthropodes. Les atomes de cuivre sont colorés en vert (Decker et Tuczek, 2000)



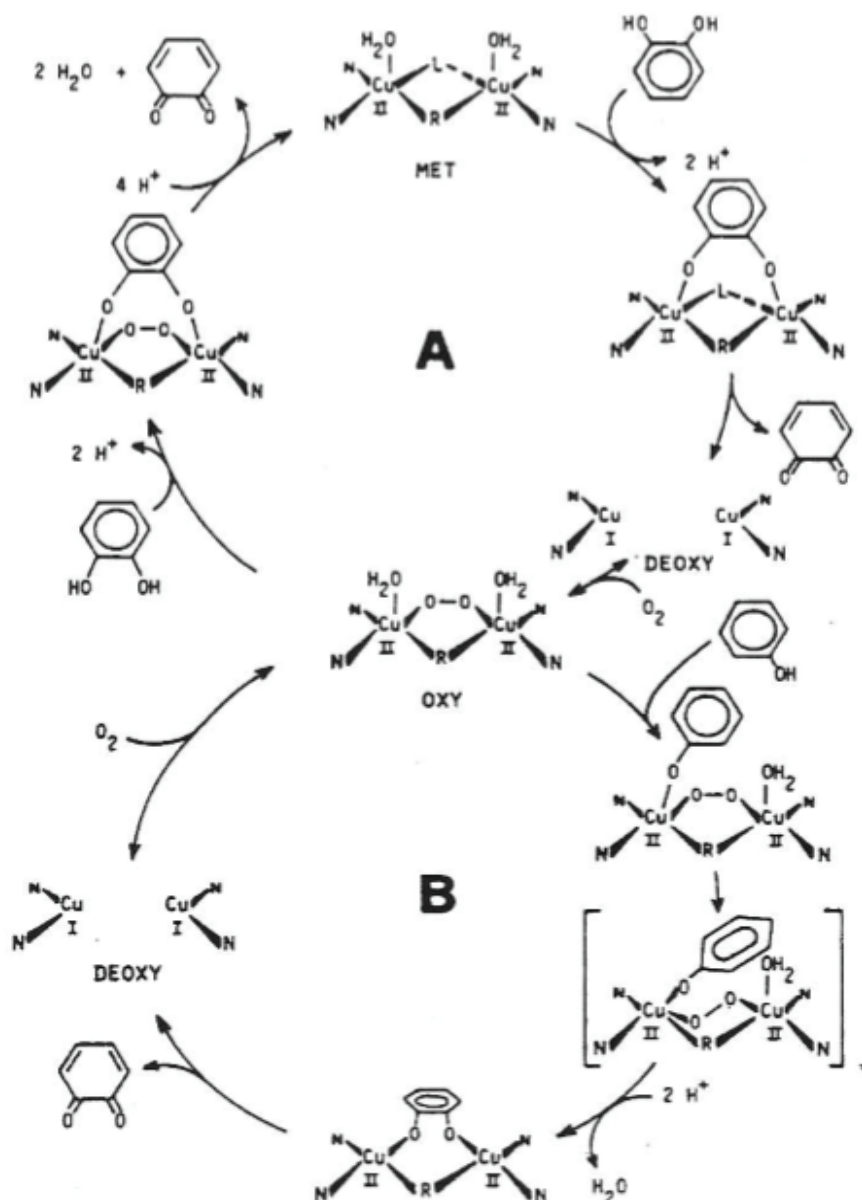
**Figure 05 :** L'état Oxydu site actif d'hémocyanine de Limulus polyphemus. Les trois résidus histidines liés au CuA son colorés en rouge, ceux liés au CuB sont colorés en vert. Les deux atomes de cuivre sont colorés en bleu et l'oxygène en rouge (Claus et Decker, 2006).



**Figure 06 :** Vue à l'intérieure du site actif d'hémocyanine de *Limulus polyphemus*. Les atomes de cuivre (marron clair), oxygène (rouge), histidines liées à l'atome CuA (bleu claire), histidines liées à l'atome CuB (bleu foncé) (Decker et Jaenicke, 2004)

### **III.5 Mécanisme réactionnels de la catalyse enzymatique**

Les mécanismes réactionnels de la catalyse enzymatique sont principalement décrits pour les PPOs d'origines fongiques (Sánchez-Ferrer et al., 1995), le site actif des PPOs peut exister sous trois formes, selon la valence du cuivre et la liaison avec l'oxygène moléculaire : deoxy (CuI-CuI), oxy (CuII-O<sub>2</sub>-CuII) et met (CuII-CuII). La forme met, est convertie en forme deoxy par double réduction électronique, et la forme deoxy résultante est capable de fixer réversiblement l'oxygène moléculaire pour donner la forme oxy (Figure 06).



**Figure 07 :** Schéma mécanistique de l'activité catécholase (cycle A) et créolase (cycle B) de la PPO (Lerch, 1995. Mayer et Harel, 1991).

### III.6 Source, localisation, rôle biologique et applications des PPOs

#### III.6.1 Source et localisation

La PPO est présente dans les différents organes des végétaux supérieurs (racine, graine, feuille, peau et cortex du fruit). Cette localisation dépend de l'espèce mais aussi du degré de maturité (Vamos-Vigyazo, 1981 ; Janovitz-Klapp, 1989 ; Macheix et al., 1990).

Elles ont été trouvées dans une grande variété d'organismes vivants y compris les procaryotes, les végétaux supérieurs, les arthropodes, les insectes, les amphibiens, les mammifères et peut aussi être trouvée dans les mycètes (Burton, 1994 ; Whitaker, 1995 ;

Chen et Flurkey, 2002 ; Claus et Decker, 2006). Elle peut être localisée dans les chloroplastes, les mitochondries, les microsomes, les peroxysomes, ou dans le plasma cellulaire (Zawistowski et al., 1991 ; Mayer et Harel, 1979). Chez les plantes saines, la PPO est majoritairement présente dans les plastides, alors qu'elle est libérée dans le cytoplasme des fruits murs ou endommagés (Anderson, 1968 ; Vaughn et Duke, 1984 ; Mayer et Harel, 1979 ; Zawistowski et al., 1991. Whitaker et Lee, 1995). Chez les mammifères, elle est localisée dans les mélanocytes de la rétine et de la peau (Claus et Decker, 2006).

### **III.6.2 Rôle biologique**

Selon Walker et Ferrar (1995), la localisation spécifique de ses formes actives laisse supposer qu'elle intervient directement dans la photosynthèse, et/ou dans la régulation de la concentration en oxygène actif dans les chloroplastes (Kuwabara et Katoh, 1999), la PPO était structurellement associée au photosystème II dans la fève *Vicia faba* (Lax et Vaughn, 1991).

Dans les plantes, les PPOs jouent un rôle de résistance contre les infections microbiennes, virales et aussi contre les mauvaises conditions climatiques (Martinez et Whitaker, 1995). Les mécanismes de défense des végétaux impliquant les PPOs sont largement controversés (Vaughn et al., 1988 ; Mayer et Harel, 1991 ; Walker et Ferrar, 1998) et plusieurs hypothèses sont émises au sujet de leur action. L'une des certitudes est que les polyphénols ont des propriétés anti-fongiques (Friedman, 1997).

La PPO catalyse l'oxydation des composés phénoliques en quinones. Ces dernières, sont elles-mêmes bactéricides et fongicides (Zinkernagel, 1986), et se polymérisent ensuite pour former des polymères bruns insolubles. Ces derniers forment une barrière qui limite la prolifération de l'infection et l'altération des tissus de la plante, grâce à leurs propriétés anti-microbiennes (Zawistowski et al., 1991). Selon Craft et Audia (1962), ces barrières de protection ont été observées dans les patates douces, les carottes, les betteraves, les courges, les navets et les pommes de terre. La PPO est impliquée dans divers processus tels que la pigmentation des vertébrés et mammifères, ainsi que le brunissement des fruits et des légumes (Whitaker, 1995 ; Fenoll et al., 2004). Chez les insectes, la PPO est impliquée dans la sclérotisation de l'exosquelette et aussi dans la protection contre d'autres organismes par leur encapsulation dans la mélanine. Elle peut induire des modifications anti-nutritives des protéines végétales pour en faire des antinutritionnels, décourageant les herbivores ou les microbes pathogènes (Steffens et al., 1998).

Par son activité hydroxylase, cette enzyme participe également dans la biosynthèse des composés phénoliques (Vámos-Vigyázó, 1981 ; Vaughn et Duke, 1984 ; Zawistowski et al., 1991). L'activité PPO joue aussi un rôle important dans la qualité des produits alimentaires

(Mayer et Harel, 1991). Elle est essentielle pour la coloration bénéfique de nos nourritures, telles que les prunes, les raisins noirs et le thé (Whitaker et Lee, 1995).

### **III.6.3 Importance de la PPO**

Cette enzyme est d'une grande importance dans le traitement des produits alimentaires, la fonction de la PPO dans le tissu végétal pendant sa croissance et son développement.

L'activité PPO détermine la qualité et la couleur d'un produit alimentaire, tels que les graines de cacao, le café et les feuilles de thé.

Les produits résultant de l'activité polyphénol oxydase (les quinones) peuvent réagir avec les protéines ce qui pourraient réduire leur digestibilité, leur goût ainsi que leur valeur nutritionnelle (Mayer, 1991).

Les technologies alimentaires sont concernées par le phénomène du brunissement enzymatique (Vamos-Vigyazo, 1981). Dans certains produits alimentaires, par exemple le raisin sec et le cacao, cette réaction indésirable est nécessaire afin d'induire des propriétés organoleptiques recherchées (Van Gelder, 2002).

### **III.6.4 Applications**

La PPO est l'un des enzymes ayant de multiples applications. En technologie environnementale, la PPO est utilisée pour la détoxification des eaux résiduaires et sols contaminés par des polluants environnementaux fortement toxiques représentés par une grande classe des composés phénoliques et polyphénoliques (Wada.S, 1993).

Cette enzyme est à l'origine du développement des biocapteurs pour la détection des composés phénoliques (Burton,S.G, 1994).

Dans l'industrie pharmaceutique elle est utilisée pour la production de la L-dopamine à partir de la L-tyrosine, produit largement utilisé pour le traitement de la maladie de Parkinson (Carvalho, 2000).

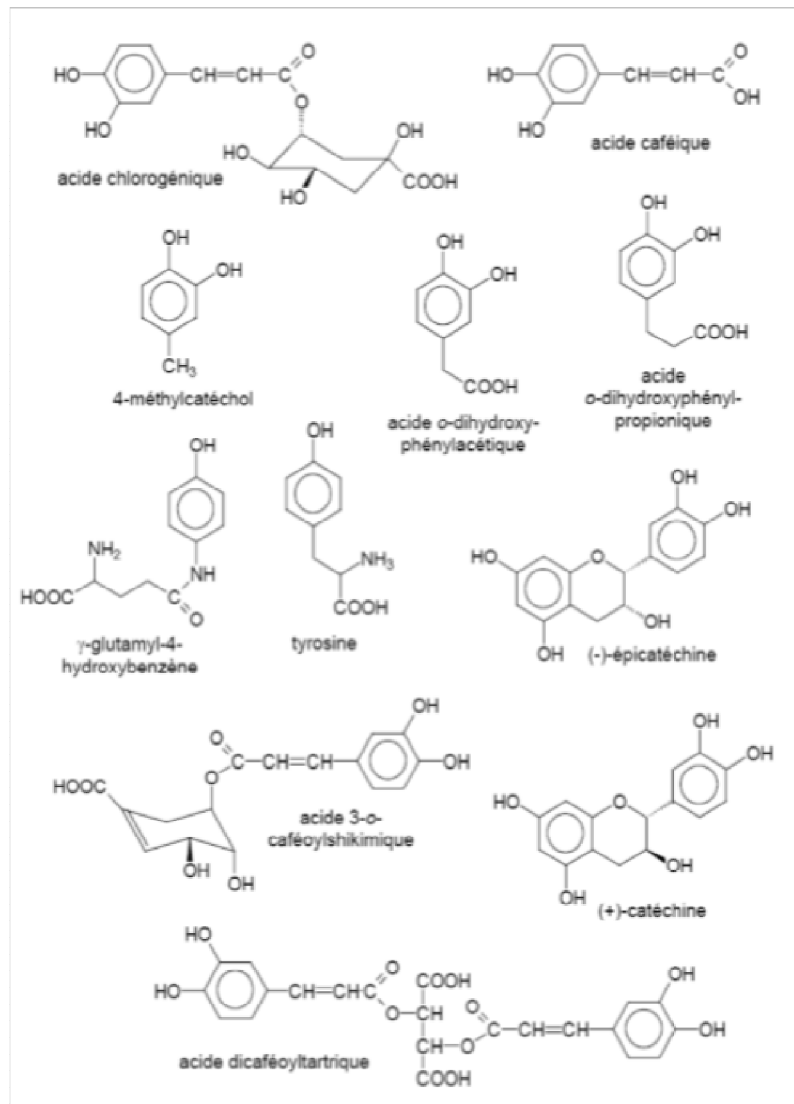
Ainsi que pour la détermination de la L-cystéine dans les produits pharmaceutiques, et l'acide ascorbique dans les produits alimentaires et l'acide benzoïque, grâce à leur effet inhibiteur sur l'activité de la polyphénol oxydase (Ros, 1993)

La polyphénol oxydase a été employée dans l'élimination des phénols de l'eau, (Bevilaqua, 2002), et en cosmétique et dans les industries alimentaires. Elle est utilisée pour activer les réactions de brunissement oxydantes (Mayer, 1979). Les mélanines synthétiques ont des rôles protecteurs contre les rayonnements (UV, rayon X, rayons gamma).

Ce sont des échangeuses cationiques, fixatrices des médicaments, des antioxydants, des agents antiviraux et des immunogènes (Zawistowski, 1991).

### **III.7. Substrats phénolique et spécificité enzymatique**

La spécificité est évaluée selon deux paramètres cinétiques : la valeur du  $K_m$  qui rend compte de l'affinité de l'enzyme pour le substrat et la vitesse maximale de catalyse  $V_{max}$ . La spécificité dépend de la structure de l'enzyme et des substrats, mais également des conditions expérimentales (Whitaker, 1995 ; Van Gelder et al., 1997). Les substrats phénoliques de la PPO présents naturellement dans les fruits et légumes sont principalement les catéchines, les dérivés estérifiés des acides hydroxycinnamiques (comme l'acide chlorogénique), la 3,4 dihydroxyphénylalanine (DOPA) et la tyrosine. Le type et la position des substituants sur le cycle aromatique sont déterminants pour la réactivité du substrat (Zawistowski et al., 1991). Ainsi les monophénols sont hydroxylés si le groupement substitué est en position para de la fonction hydroxyl. Lors d'une étude effectuée sur la PPO de pomme, Janovitz-Klapp (1989) a montré que, par rapport au 4-méthylcatéchol (substrat couramment utilisé pour la mesure d'activité des PPO), la présence d'un groupement carboxylique en para de la fonction hydroxyl (acide o-dihydroxybenzoïque) ou conjugué au cycle aromatique par une double liaison (acide caféique) augmentait l'affinité d l'enzyme pour son substrat o-diphénolique, tout en diminuant la valeur de  $V_m$ . Lorsque cette fonction carboxylique est estérifiée (acide chlorogénique) ou éloignée du cycle par l'interposition de groupements  $CH_2$  (acides o-dihydroxy-phénylacétique et phénylpropionique), une augmentation simultanée des valeurs de  $K_m$  et de  $V_m$  est observée.



**Figure 08 :** Structure de quelques composés phénoliques substrats de la polyphénol oxydase (Rigal, 2001)

### III.8 Mesure des activités PPO

L'activité de la PPO peut être déterminée en mesurant la vitesse de disparition du substrat, ou la vitesse de formation du produit. Il est nécessaire de limiter la mesure à la phase initiale de la réaction afin d'éviter l'inactivation de l'enzyme par le produit de la réaction (o-quinone), la diminution de la concentration du substrat, et la polymérisation du produits (VámosVigyázó, 1981).

Les deux activités de la PPO, monophénol oxydase (crésolase) et diphénol oxydase (catécholase), peuvent s'appliquer à une grande variété des substrats (Whitaker, 1995). La PPO présente différentes affinités vis-à-vis du même substrat selon la source de son obtention tel que l'espèce, le genre, le cultivar, ou également le tissu (Zawistowski et al., 1991).

La vitesse de disparition du substrat peut être mesurée par l'absorption de l'oxygène dissout par la technique de Warburg ou par polarographie à l'aide d'une électrode à oxygène (Vámos-Vigyázó, 1981 ; Mayer et Harel, 1991 ; Gaillard et al., 1993 ; Naish-Byfield et Riley, 1992). La vitesse de formation du produit peut être déterminée par méthode spectrophotométrique en mesurant la densité optique des composés colorés (o-quinones) formés à partir des substrats. Cette méthode est la plus utilisée pour mesurer l'activité diphénolase de la PPO (Vámos-Vigyázó, 1981 ; Zawistowski et al., 1991 ; Espín et al., 1995).

Une variété de substrats de synthèse peut être utilisée dans ce cas, par exemple : le catéchol, le 4-méthylcatéchol, le pyrogallol, ou des substrats naturels tels que l'acide chlorogénique (Vámos-Vigyázó, 1981).

#### **IV. BRUNISSEMENT ENZYMATIQUE**

##### **IV.1 Introduction**

Le brunissement enzymatique est l'une des réactions qui affecte le plus la couleur des fruits et des légumes, le brunissement enzymatique peut avoir lieu lors de la croissance des fruits, c'est l'exemple de la datte (de Man, 1999; hui, 2004 ; Eidhin et al., 2005 ; Mann, 2008) ou durant l'endommagement mécanique lors du traitement et des manipulations post récolte (de Man, 1999; Mann, 2008), également lors de la conservation et des transformations technologiques (parage, découpage, broyage pour la préparation des jus, déshydratation, conservation au froid et congélation) (Jeantet et al., 2006)

Ce brunissement enzymatique est dû à une oxydation, catalysée par les polyphénoloxydases, des composés phénoliques endogènes par l'oxygène moléculaire où les premiers produits de réaction sont les quinones. Ensuite, les quinones se polymérisent, provoquant l'apparition de pigments généralement bruns ou noirs (mélanines), en passant par des intermédiaires qui vont du rouge au bleu (Mathew et Parpia, 1971 ; Pierpoint, 1966). Si l'oxygène, les composés phénoliques et l'enzyme apparaissent comme les trois facteurs essentiels nécessaires à la manifestation du brunissement, Ce phénomène est accompagné de la perte des qualités nutritionnelles, fonctionnelles et organoleptiques, se traduisant par l'assombrissement, la diminution de la fermeté et l'altération de la flaveur (Zawistowsky et al., 1991). Parfois recherchés, ces phénomènes de brunissement dans d'autres cas comme dans le traitement du thé noir (Eskin 1990; Ullah, 1991), le café (Amorim et Melo, 1991) et le cacao (Lee et al., 1991; Lopez et Dimick 1991) est bénéfique dans une certaine mesure car il améliore la qualité des boissons à travers les produits savoureux formés (Yoruk et Marshall, 2003) .

Le brunissement enzymatique s'installe au sein de la datte après sa récolte et augmente avec des teneurs élevées en eau de ce fruit, cela constitue l'un des facteurs de désordre physiologique de la datte conduisant à une altération de sa qualité et par conséquent une diminution de sa valeur marchande (Yahia et Kader, 2011),

Sachant que les phénols oxydés lors du brunissement sont responsables en partie de la flaveur et de la couleur des fruits et légumes (Shahidi et Naczk, 2004).

Les paramètres essentiels responsables du brunissement des fruits sont les teneurs en composés phénoliques et en activités enzymatiques, le pH, température, disponibilité d'oxygène.

### **IV.2 Contrôle de brunissement enzymatique**

Le taux de brunissement enzymatique dépend de la quantité de PPO actives dans les tissus, de la teneur en polyphénols, du pH, de la température et de la disponibilité en oxygène.

Trois acteurs interviennent dans la manifestation du brunissement enzymatique : l'enzyme qui catalyse la réaction, les substrats, l'oxygène d'une part et les composés phénoliques d'autre part, et enfin les produits de la réaction primaire (les quinones) et secondaire (les produits de polymérisation) qui sont responsables de la coloration.

Les méthodes d'inhibition ou prévention du brunissement enzymatique peuvent être classées en trois catégories selon qu'elles affectent l'enzyme, les substrats ou les produits de la réaction.

#### **IV.2.1 Méthode chimique de contrôle de brunissement enzymatique**

Mc Evily et al. (1992) classent les inhibiteurs des PPO en six catégories (Tableau 1) : les agents réducteurs, les acidifiants, les agents chélateurs, les agents complexant, les inhibiteurs d'enzymes, les traitements enzymatiques.

**Tableau 01** : Inhibiteurs de brunissements enzymatique (McEvily et al., 1992).

Agents réducteurs	Sulfites et dérivés Acide ascorbique et analogues Cystéine et glutathion
Agents chélateurs	Phosphates Acides organiques EDTA
Acidifiants	Acides citrique Acides phosphorique
Inhibiteurs d'enzymes	Acide carboxylique aromatique Alcools aliphatiques Anions Peptides Résorcinol substitué
Traitements enzymatique	Oxygénase o-Méthyltransférase Protéase
Agents complexant	Cyclodextrines

Les produits chimiques sont les plus utilisés généralement pour le contrôle du brunissement enzymatique ; cependant, leur utilisation dans les produits alimentaires transformés est limitée aux composés qui ne sont pas toxiques, sains et qui ne compromettent pas le goût et la saveur, et évidemment si le surcoût économique est supportable (McEvily et al., 1992 ; Sapers, 1993)

#### **IV.2.1.1 Méthode agissant sur l'enzyme**

Selon Mayer et Harel, (1979), les inhibiteurs chimiques agissant directement sur l'enzyme peuvent être classés en deux groupes, ceux interagissant avec le cuivre lié à la protéine enzymatique et ceux affectant le site qui reconnaît le substrat phénolique (analogues de substrat). Dans le premier groupe, on trouve les chélateurs de métaux tels que l'azotate, le cyanure et les halogénures. L'inhibition par les halogénures est fortement dépendante du pH, augmentant quand le pH diminue (Valero et Garcia-Carmona, 1998). Il a été proposé que les halogénures et le cuivre forment un complexe en déplaçant le cuivre lié à un résidu histidine (Penafiel et al., 1984). Le second groupe, les acides carboxyliques aromatiques des séries benzoïque et cinnamique ont été largement étudiés comme des analogues de substrats phénoliques. Bien que la plupart des auteurs aient observé que ces composés étaient des inhibiteurs compétitifs, quelques auteurs ont indiqué que suivant la source d'enzyme, la nature du substrat et la méthode de dosage, l'inhibition pouvait être de type compétitif, non compétitif ou mixte (Robert et al., 1997 ; Janovitz-klapp et al., 1990a).

### **IV.2.1.2 Méthode agissant sur les substrats**

L'inhibition du brunissement enzymatique peut être obtenue en supprimant l'un des deux substrats (oxygène ou composés phénoliques) du milieu réactionnel. L'élimination complète de l'oxygène est sans doute la méthode la plus efficace pour éviter l'oxydation enzymatique des composés phénoliques par les PPO. Cependant, cette technique est inutilisable pour les tissus vivants en raison des risques de déviations métaboliques liés à l'anaérobiose qui entraîne l'apparition d'arrière-goût (Ballantyne et al., 1988). Par ailleurs, des traces d'oxygène sont suffisantes pour induire le brunissement (Janovitz-klapp et al., 1990b).

Certains adsorbants, qui se complexent avec les substrats phénoliques ont été proposés pour l'élimination des composés phénoliques des aliments. Les premiers travaux concernant l'inhibition du brunissement enzymatique des fruits par les cyclodextrines (CD) ont fait l'objet d'un brevet (Hicks et al., 1990). L'effet inhibiteur des CD est dû à leur pouvoir complexant vis-à-vis des polyphénols les rendant indisponibles pour l'oxydation catalysée par les polyphénoloxydases (Billaud et al., 1995). Cependant, l'efficacité du piégeage, et donc l'inhibition, sont fortement dépendantes de la nature du phénol et de l'enzyme (Fayad et al., 1997).

L'élimination des polyphénols consiste à les modifier enzymatiquement. Pour cela, des traitements d'hydroxydation par une laccase, éventuellement immobilisée, suivis d'une ultrafiltration pour éliminer les pigments formés ont été proposés pour les jus de fruits (Gökmen et al., 1998). Deux autres types d'enzymes ont été suggérés. Proposée par Finkle et Nelson, (1963), la première est une o-méthyltransférase permettant de transformer les o-diphénol, substrats des PPO en leurs dérivés méthoxy correspondants (par exemple, les dérivés caféoyl sont convertis en dérivés féruloyl) qui ne peuvent être utilisés comme substrats par les PPO. Une autre modification correspond à l'ouverture du cycle benzénique par une protocatéchuate-3,4dioxygénase purifiée de *Pseudomonas aeruginosa* qui empêche le brunissement enzymatique du jus de pomme en modifiant le substrat phénolique (Kelly et Finkle, 1969).

### **IV.2.1.3 Méthode agissant sur les produits de réaction**

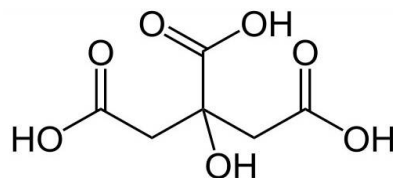
Les o-quinones sont les produits primaires issus de la réaction d'oxydation enzymatique des diphenols. Très instables, elles peuvent entrer dans un grand nombre de réactions (Rouet-Mayer et al., 1993).

Elles peuvent notamment être ramenées au stade de l'o-diphénol d'origine par réduction ou subir une attaque nucléophile conduisant à des produits d'addition incolores de nombreux composés agissant sur les o-quinones et notamment l'acide ascorbique (Hsu et al., 1988), les thiols (Voldrich et al., 1995), les sulfites (Sayavedra et Montgomery, 1986) et les acides aminés (Kahn, 1985) peuvent être utilisés pour inhiber le brunissement enzymatique. Cependant, les produits secondaires, résultat principalement de la polymérisation oxydative des o-quinones, sont fréquemment des produits colorés qui deviennent de moins en moins réactifs au fur et à mesure de l'avancement de la réaction de brunissement.

L'acide citrique c'est une acide organique faible (Rico et al., 2007 ; Li et al., 2008), le plus abondant dans les plantes et les fruits, en particulier les agrumes. L'acide citrique intervient comme intermédiaire dans le métabolisme de tous les organismes aérobies (cycle de Krebs) donc dans celui des êtres humains. Il est peut être produit à la fermentation de mélasses grâce à des souches non toxigènes d'*Aspergillus Niger* (Pernis et al., 2009)

Il a une valeur commerciale (Imandi et al., 2008), environ 70% est utilisé dans l'industrie alimentaire, et 10% dans les cosmétiques et les produits pharmaceutiques ( Kamzolova et al., 2004) et est généralement reconnu comme étant non dangereux en raison de sa faible toxicité en comparaison avec d'autres acidifiants (Soccol et al., 2006) .

L'acide citrique est un acide  $\alpha$ -hydroxylé (AHA) de nom chimique acide 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylique (Gougerot-Schwartz, 2000) de formule chimique  $C_6H_8O_7$ , il est un solide blanc, très soluble dans l'eau.



**Figure 09 :** La formule développée de l'acide citrique (Gougerot-Schwartz, 2000).

Cet acide organique a été souvent signalé par son activité anti-brunissement des fruits et les légumes (Li-qui et al., 2009). L'efficacité anti-brunissement de l'acide citrique dans les fruits et les légumes se rapporte à deux facteurs principaux, y compris les types et cultivars des produits, et les concentrations d'agents anti-brunissement. Par exemple l'acide citrique s'est avéré l'acide organique le plus approprié pour augmenter la qualité et la durée de conservation de l'aubergine parce qu'il était efficace à faible concentration et parce qu'il est peu susceptible d'affecter des paramètres sensoriels et en même temps peut augmenter la valeur nutritive du produit avec faible coût supplémentaire (Todaro et al., 2011).

# ***Matériel et méthodes***

### I. Matériel

#### I.1 Matériel biologique

La datte (*Phoenix dactylifera* L.) de la variété Deglet Nour est utilisée comme source de la polyphénol oxydase (PPO) (Figure, 10). Les dattes sont achetées à maturité du marché local de la Wilaya de Laghouat dans la semaine précédant leurs utilisations. Elles sont lavées avec de l'eau distillée, séchées et conservées à -15°C.



**Figure 10 :** Les dattes deglet nour d'Algérie (*Phoenix dactylifera* L.)

#### I.2 Produits chimiques

Le pyrogallol et l'acide benzoïque sont fournis par Fluka. Tous les autres produits chimiques et réactifs utilisés dans cette étude sont d'un grade analytique.

### II. Méthodes

#### II.1 Préparation de l'extrait brut de la PPO

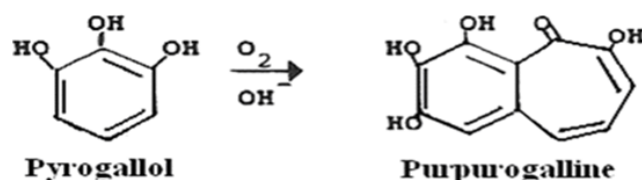
Les dattes sont lavées avec de l'eau distillée et sont séchées à l'air libre. 200 g de chair de dattes préalablement refroidie à -15°C sont découpées et homogénéisées pendant 2 min à l'aide d'un mixeur en présence de 300 mL d'acétone refroidie (-15°C) ceci afin d'éliminer les phénols endogènes, les composés chromogènes et pour enlever l'eau (Vámos-Vigyázó, 1981).

La suspension de pulpe est filtrée à travers quatre couches de la gaze et est pressée manuellement jusqu'à l'obtention d'un résidu sec dit poudre d'acétone. La pulpe pressée est séchée à l'air libre pour éliminer l'acétone. La pulpe est ensuite broyée et suspendue dans environ 250 ml d'eau distillée puis laissée une nuit à 5°C dans un réfrigérateur.

Le macérât est filtrée à travers de la gaze, et la pulpe qui se dépose sur le tissu est pressée à sec manuellement. Le filtrat obtenu est ensuite centrifugé à 4000 tr/min à l'aide d'une centrifugeuse (Sigma Fischer Bioblock Scientific). Le surnageant récupéré d'un volume total de 225 ml et de couleur jaunâtre, représente l'extrait brut de la PPO. L'extrait enzymatique brut est divisé en deux parties dans des tubes Eppendorf qui vont être conservées à -10°C.

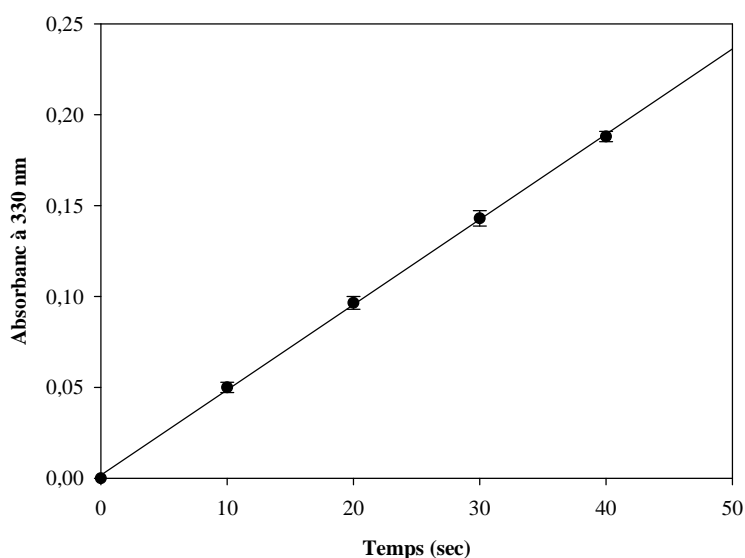
## II. 2 Mesure de l'activité PPO

L'activité de la PPO est mesurée à 330 nm en utilisant le pyrogallol comme substrat par la mesure directe de la formation de la purpurogalline à l'aide d'un spectrophotomètre (Thermo Scientific HeλIOS γ) en présence oxygène/aire (Figure 11).



**Figure 11** : Reaction d'oxydation du pyrogallol par la PPO (Abrash et al., 1989).

La solution mère de pyrogallol à 0.4 M est préparée dans de l'acide ortho-phosphorique à 0.5 mM (Fan et Flurkey, 2004 ; Abrash et al., 1989). Le milieu réactionnel contient 1 ml de substrat à 80mM. La réaction d'oxydation est déclenchée par l'ajout de 0.04 ml de l'extrait enzymatique brut. La variation de l'absorbance est enregistrée toutes les 5 secondes pendant deux minutes après l'ajout de l'extrait enzymatique. La vitesse initiale ( $v_0$ ) représente la pente de la partie linéaire de la courbe de l'absorbance en fonction du temps (Figure, 12) (Ünal, 2007). En spectrophotométrie une unité enzymatique (UE) est définie par la quantité d'enzyme qui cause l'augmentation de 0.001 d'absorbance par minute.



**Figure 12:** Exemple de détermination de la vitesse initiale d'oxydation du pyrogallol par la PPO (pyrogallol à 80 mM, volume de l'extrait enzymatique 0.04 ml (extrait brut), tampon acétate de sodium 0.05 M-pH 4.5, température 30°C, volume réactionnel 1 ml).

### **II.3 Détermination de l'IC<sub>50</sub> de l'acide benzoïque**

Pour déterminer la concentration d'inhibiteur qui provoque une diminution de l'activité enzymatique par 50 % (IC<sub>50</sub>), l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet nour a été mesurée à 30°C et pH 4.5 (tampon acétate 0.1 M) en absence et présence de différentes concentrations de l'acide benzoïque comprises entre 0,5 et 10 mM pour une concentration constante de pyrogallol (80 mM). La valeur d'IC<sub>50</sub> a été déterminée à partir de la représentation de l'activité enzymatique résiduelle en fonction de la concentration de l'inhibiteur (Chen et *al.*, 1998).

### **II.4 Effet de l'acide benzoïque sur l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet nour**

Pour déterminer l'effet de l'acide benzoïque (0.5 et 10 mM) sur la PPO de datte Deglet nour, l'activité pyrogallol oxydase est mesurée à pH 4.5 (tampon acétate de sodium 0.05 M) dans le milieu réactionnel standard en absence et en présence de deux concentrations constantes de l'acide benzoïque (1.5-2.5 mM) et à différentes concentrations de pyrogallol comprises entre 20 à 80 mM.

Le type d'inhibition a été déterminé à partir de la représentation en double inverse de Lineweaver-Burk de la vitesse initiale en fonction de la concentration du substrat (Arslan et Doğan, 2005). La constante d'inhibition ( $K_I$ ) a été calculée à partir du graphes secondaire des paramètres cinétiques en fonction de la concentration d'inhibiteur (Chen et *al.*, 1998).  $K_I$  représente la constante de dissociation du complexe Enzyme-Inhibiteur ( $EI$ ).

La constante d'inhibition  $K_I$  est une mesure quantitative du pouvoir inhibiteur des inhibiteurs réversibles. Par conséquent, dans notre étude l'efficacité d'un inhibiteur est exprimée par la  $K_I$ , qui est l'inverse de l'affinité de l'enzyme vis-à-vis de l'inhibiteur.

### **II.5 Analyses des données**

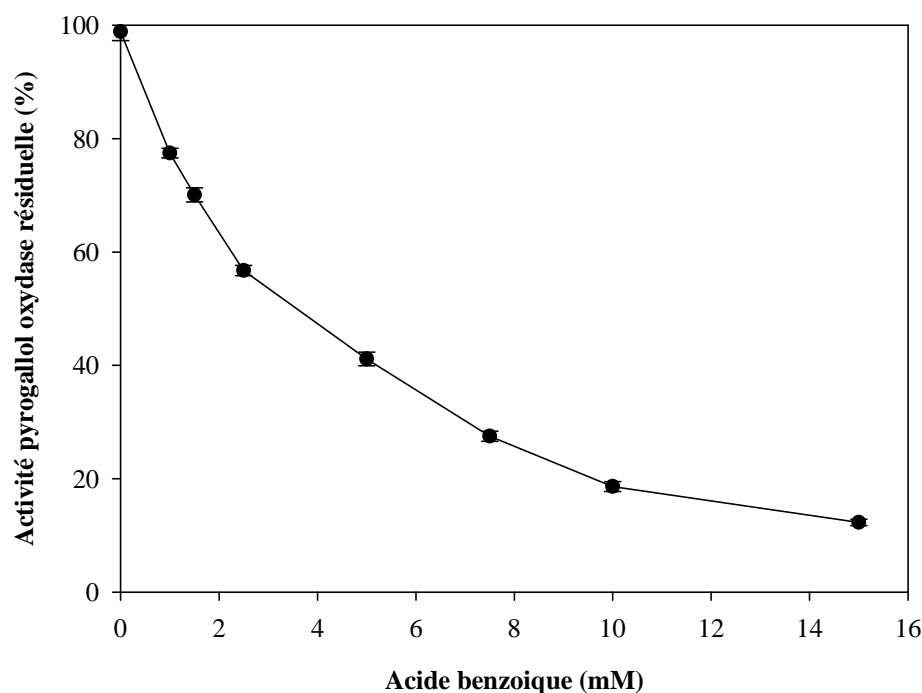
Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type ( $n=2$ ). L'analyse des données cinétiques observées a été effectué par l'ajustement à l'aide des régressions linéaires et des régressions non linéaires par l'utilisation des programmes suivants : Table Curve 2D<sup>TM</sup> (JandelScientific Windows v2.03, Copyright© 1989-1994), Excel® (Microsoft Office® Excel® 2007) et SigmaPlot (SigmaPlot for Windows Version 12.0, Copyright 2011 Systat Software, Inc.).

## ***Résultats et discussion***

### I. Détermination de la valeur IC<sub>50</sub> de l'acide benzoïque

L'effet de différentes concentrations de l'acide benzoïque l'oxydation du pyrogallol par la PPO de datte Deglet noir (*Phoenix dactylifera* L.) a été étudié. L'acide benzoïque exerce un effet inhibiteur concentration-dépendant sur l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte. La Figure (13) représente le pourcentage d'inhibition de la PPO par l'acide benzoïque utilisant le pyrogallol comme substrat. L'activité pyrogallol oxydase diminue significativement avec l'augmentation de la concentration d'acide benzoïque dans le milieu.

La valeur d'IC<sub>50</sub> (définie comme étant la concentration d'inhibiteur qui provoque une diminution de l'activité enzymatique initiale à 50%) déterminée à partir de la courbe de l'activité PPO résiduelle en fonction de la concentration de l'acide benzoïque est égale à 2.47 mM ( $\pm 0.015$ ).



**Figure 13:** Effet de la concentration de l'acide benzoïque sur l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet noir (*Phoenix dactylifera* L.) (pH 4.5 (tampon acétate de sodium à 0.05 M) ; 30°C ; 40  $\mu$ l de l'extrait enzymatique brut, pyrogallol à 80 mM).

## **II. Etude cinétique de l'inhibition de la PPO des dattes Daglet-Nour par l'acide benzoïque**

Les résultats ainsi trouvés montrent que tous les inhibiteurs testés ont provoqués une diminution significative de l'activité triphénol oxydase de la PPO de datte Deglet nour et que leur pouvoir inhibiteur dépend non seulement de leurs concentrations dans le milieu réactionnel mais aussi de la concentration du substrat utilisé.

Sous les conditions expérimentales utilisées dans cette présente étude, l'oxydation du pyrogallol par la PPO de datte suit une cinétique de Michaelis-Menten. La cinétique d'inhibition de l'acide benzoïque agissant sur l'enzyme a été déterminée par l'analyse des représentations graphiques en double inverse de Lineweaver-Burk. La méthode de régression linéaire a été utilisée pour déterminer si les données expérimentaux sont correctement ajustées par l'équation d'inhibition.

L'équation de Lineweaver-Burk pour l'inhibition compétitive s'écrit comme suit:

$$\frac{1}{V_0} = \left( \frac{\alpha K_m}{V_{max}} \right) \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Avec :

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

$K_I$  : constante de dissociation du complexe

EI (mM) ;

[I] : concentration de l'acide benzoïque (mM).

Les coefficients de régression linéaire ( $R^2$ ) sont indiqués dans le Tableau (2). Leurs valeurs sont comprises entre 0.997-0.999, ce qui indique que les données expérimentaux sont parfaitement ajustées par l'équation d'inhibitions choisie.

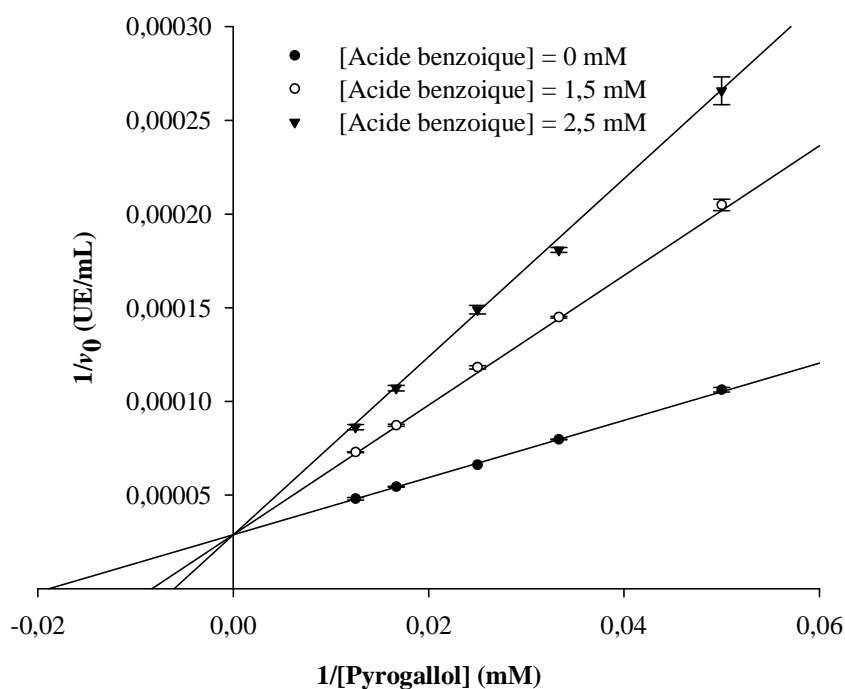
**Tableau 2 :** Les valeurs de  $K_m$ ,  $V_{max}$  et  $K_I$  de la PPO des dattes Deglet-Nour avec le pyrogallol comme substrat en présence et en absence d'acide benzoïque.

Acide benzoïque (mM)	$K_I$ (mM)	$K_m$ (mM)	$V_{max}$ (UE/mL)	Type d'inhibition	$R^2$
0		52,49±2,05	34567,86±692,43		0.998
1.5	1.02±0.06	122,54±4,43	34764,47±861,91	Compétitive	0.999
2.5		177,60±18,75	37200,28±2957,05		0.997

Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$ SD.

La Figure (14) montre le graphique de Lineweaver-Burk de l'enzyme en présence d'acide benzoïque. La représentation graphique de  $1/v_0$  en fonction de  $1/[\text{Pyrogallol}]$  est un ensemble de courbes droites à différentes pentes qui se croisent l'une à l'autre sur l'axe des ordonnées.

La valeur de  $V_{max}$  demeure constante tant que la valeur de  $K_m$  augmente avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur, ceci indique que l'acide benzoïque est considéré comme un inhibiteur compétitif de l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet-nour. Cet inhibiteur se fixe seulement sur l'enzyme libre et non pas sur le complexe enzyme-substrat.



**Figure 14:** Les graphiques de Lineweaver-Burk de l'inhibition de l'activité de la PPO de datte Deglet nour (*Phoenix dactylifera* L.) sur le pyrogallol par l'acide benzoïque. Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$ ES.

La constante d'équilibre de fixation de l'inhibiteur sur l'enzyme libre,  $K_I$ , a été obtenue à partir de la représentation graphique de la constante de Michaelis-Menten apparente ( $K_m$ ) en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Comme c'est indiqué dans le Tableau (1), la constante d'inhibition ( $K_I$ ) pour l'acide benzoïque, utilisant le pyrogallol comme substrat égale 1.02 mM.

L'inhibition compétitive de la PPO par l'acide benzoïque observée dans notre étude est en accord avec les résultats trouvés pour d'autres PPOs obtenues à partir de différentes sources (Gouzi et Benmansour, 2007 ; Gouzi et *al.*, 2010; Ziyan et Pekyardimci, 2004 ; Robert et *al.*, 1997). Le caractère inhibiteur de l'acide benzoïque est due à la présence du cycle benzène au niveau de sa structure (Pifferi et *al.*, 1974).

Gouzi et Benmansour (2007) ont trouvé que l'acide benzoïque est un inhibiteur compétitif de la PPO de champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) lorsque le pyrogallol est utilisé comme substrat. La PPO des dattes Deglet nour est faiblement inhibée par l'acide benzoïque par rapport à la PPO de champignon de Paris ( $K_I = 0.049$  mM) (Gouzi et Benmansour, 2007).

Zawistowski et al. (1991), Malkin et al. (2001), et Burton (1994) ont signalés que l'acide benzoïque agit en tant qu'inhibiteur compétitif simple se fixe fortement à la PPO.

L'acide benzoïque a été longtemps connu comme inhibiteur de l'o-diphénol oxydase (1996). Duckworth et Coleman (1970) ont trouvé que l'acide benzoïque inhibe l'activité diphénolase de la PPO et que cette inhibition est compétitive.

# ***Conclusion***

Notre travail avait pour objectif d'étudier l'inhibition de la polyphénol oxydase de datte Deglet nour d'Algerie par l'acide benzoique en utilisant le pyrogallol oxydase comme substrat phénolique.

La datte Deglet nour (*Phoenix dactylifera* L.) contient une polyphenol oxydase ayant une activité pyrogallol oxydase élevée en milieu relativement acide.

La réaction de l'oxydation du pyrogallol en présence de la polyphénol oxydase est fortement inhibée par l'addition de l'acide benzoique dans le milieu reactionnel. L'acide benzoique agit tant qu'inhibiteur compétitif vis-à-vis de l'activité pyrogallol de datte et se fixant sur le site actif de l'enzyme.

L'effet inhibiteur de l'acide benzoique a été attribué à la présence du cycle benzène au niveau de sa structure.

L'acide benzoique est un composé naturel non toxique peut être donc utilisé pour contrôler efficacement le brunissement des dattes Deglet nour d'Algerie pendant leur stockage et leur processus de transformation.

# ***Références bibliographiques***

- Abrash, H.I., Shih, D., Elias, W., Malekmehr, F. (1989).** A kinetic study of the air oxidation of pyrogallol and purpurogallin. *International Journal of Chemical Kinetics*, 21: 465-476.
- Al-Farsi, M. A., & Lee, C. Y. (2008).** Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(10), 877-887.
- Ahmed, J., Al-Jasass, F. M., & Siddiq, M. (2014).** Date fruit composition and nutrition. *Dates: Postharvest Science, Processing Technology and Health Benefits*, 261-283
- Ahmed, J., & Ramaswamy, H. S. (2006).** Physico-chemical properties of commercial date pastes (*Phoenix dactylifera*). *Journal of Food Engineering*, 76(3), 348-352.
- Albert L. (1998).** La santé par les fruits. Ed. Veechi, Paris. 44-74 p.
- Amorim, H.W. & Melo, M. (1991).** Significance of enzymes in non-alcoholic coffee beverage. Dans: Fox, P.F. (Ed.) *Food enzymology*. Elsevier Science Publishing, New York, pp. 189-209.
- Anonyme.2002.** Ministère de l'agriculture . Statistique agricole. Série A. Revue p77.
- Arslan, O. and Doğan, S. (2005).** Inhibition of polyphenol oxidase obtained from various sources by 2,3-diaminopropionic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1499-1504.
- Al-Shahib, W., & Marshall, R. J. (2002).** Dietary fibre content of dates from 13 varieties of date palm *Phoenix dactylifera* L. *International journal of food Science and technology*, 37, pp719-721.
- Ballantyne, A., Stark, R. & Selman, J. D. (1988).** Modified atmosphere packaging of shredded lettuce. *Int.J. Food.Sci. Technol.*, 23, 267-274.
- Benchabane, A., Kechida, F., & Bellal, M. M. (2000).** Caractérisation des substances pectiques et évaluation des autres composés pariétaux au cours de la maturation de deux variétés de datte d'Algérie. Dans: *Annales de l'Institut national agronomique El Harrach* (Vol. 21, No. 1-2, pp. 33-39). Institut national agronomique.
- Benchelah, A. C., & Maka, M. (2008).** Les dattes: intérêt en nutrition. *Phytothérapie*, 6(2), 117121.
- 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.
- Booij I., Piombo G., Risrucci J. M., Coupe M., Thomas D., Ferry M., 1992-** Etude de la composition chimique de dates à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Fruits*, vol. 47, N° 6, 667-677pp.
- Bouddar 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.
- Bouguedri L., Maanani F., Missaoui M., Bounaga N., et Dore J. C., 1994-** Analyse typologique d'une population de palmiers dattiers mâles (*Phoenix dactylifera* L.) au moyen de différentes approches multiparamétriques. *Améliorant. Prod. Agro. Milieu Aride*. 6 : 263-277pp
- 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.

- Billaud, C., Regudie, E., Fayad, N., Richard-Forget, F. & Nicolas, J. (1995).** Effect of cyclodextrins on polyphenol oxidation catalyzed by apple polyphenoloxidase. In: Lee, C.Y., Whitaker, J.R. Enzymatic browning and its prevention. Am. Chem. Soc., Washington, 295-312.
- Burton, S.G. (1994).** Biocatalysis with polyphenol oxidase: a review. *Catalysis Today* 22, 459-487.
- Carvalho, G.M.J., Alves, T.L.M., Freire, D.M.G. 2000.** L-DOPA production by immobilized tyrosinase. *Appl. Biochem. Biotechnol*, 84, 791-800.
- Chen, L., Flurkey, WH. 2002.** Effect of protease on the extraction of crimini mushroom tyrosinase isoforms. *Current Topics in Phytochemistry*, 5: 109-120.
- Chen, QX., Lu, HY., Zhu, CM., Lin, HN., Zhou, HM. 1998.** The effect of Nthiophosphoryl amino acids on the activity of green crab (*Scylla serrata*) alkaline phosphatase. *Biochem Mol Biol Int*, 45: 465-73.
- Cheftel J.C., Cheftel H. (1976).** Le brunissement enzymatique. In *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*. Tec. Doc., Lavoisier, 353-363.
- Cheriot S., 2007.** Role des produits de la réaction de Millard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phenols et des lipides. L'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech ), thèse de doctorat , spécialité sciences de l'aliment , 241.
- Claus, H. and Decker, H. 2006.** Bacterial tyrosinases. *Systematic and Applied Microbiology*, 29: 13-14.
- Craft CC., Audia, WM. 1962.** Phenolic substances associated with wound-barrier formation in vegetables. *Bot. Gaz*, 123: 211-219.
- Crumière F., 2000.** Inhibition of enzymatic browning in food products using bio-ingredients, A thesis of the requirements of the degree of master of Science, Département of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University Montreal, Québec. P92
- De Man, J. M. (1999).** Principles of food chemistry (3<sup>ème</sup> éd). Aspen Publication Maryland ,460p.
- Decker, H., Terwilliger, N. 2000.** Cops and robbers: Putative evolution of copper oxygen-binding proteins. *The Journal of Experimental Biology*. 203: 1777-1782.
- Decker H., Tucek F., 2000.** Tyrosinase catécoloxidase activity of hemocyanins :structural basis and molecular mechanism, *Trends biochem.Sci.*,25,392-397.
- 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. Memoire de Magister.option génie alimentaire, Université de Boumerdès.24 p.
- Dogan S., Turan P., Dagan M., Alkan M., 2007.** Inhibition kinetic of ocimum basilicium L.Polyphenol oxydase.5, 46.
- Duckworth, H.W and Coleman, J.E. (1970).** Physicochemical and Kinetic Properties of Mushroom Tyrosinase. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 245, No. 7, pp. 1613-1625.
- EI-Shaarawy, M., Mesallam, M.I., EI-Nakhal, A.S., & Wahdan, A.N. (1989).** Studies on extraction of dates. Proc. of the 2nd Symp. On Date Palm, K.F. Univ., AI-Hassa, Saudi Arabia, March 3-6 : 259-271.
- EidhinTrujano, M. F., Tudela, J., & García-Cánovas, F. (2005).** Monophenolase activity of polyphenol oxidase from Haas avocado. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1091-1096.

- Eskin, N.A.M. (1990).** Biochemistry of food spoilage: Enzymatic browning. Dans Eskin, N.A.M. (Ed.), *Biochemistry of Foods*, Academic Press, New York, pp. 401-432.
- Espin J.C., Garcia-Ruiz P.A., Tudela J., Varon R., Garcia-Canovas F. (1995).** Monophenolase and diphenolase reaction mechanisms of apple and pear polyphenol oxidases. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 2968-2975.
- Estanove P. (1990).** Note technique : Valorisation de la datte. In : Options méditerranéennes, série A, N°11. *Systèmes agricoles oasiens*. Ed. CIHEAM. pp 301-318.
- Fan, Y., Flurkey, WH. 2004.** Purification and characterization of tyrosinase from gill tissue of *Portabella* mushrooms. *Phytochemistry*, 65: 671-678.
- 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. Ortom, Lavoisier, INRA. 27-28 p.
- Fayad, N., Marchal, L., Billaud, C. & Nicolas, J. (1997).** Comparison of  $\beta$ -cyclodextrin effect on polyphenol oxidation catalyzed by purified polyphenol oxidase from different sources. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2442-2446.
- Fenoll, L.G., Peñalver, M.J., Rodríguez-López, J.N., García-Ruiz, P.A., García-Cánovas, F., Tudela, J. 2004.** Deuterium isotope effect on the oxidation of monophenols and o-diphenols by tyrosinase. *Biochem. J.*, 380: 643-650.
- Ferrar, P.H and Walker, J.R.L. (1996).** Inhibition of diphenol oxidases: A comparative study. *Journal of Food Biochemistry*. 20. 15-30.
- Finkle, B.J. & Nelson, R.F. (1963).** Enzyme reactions with phenolic compounds: Effect of o-methyltransferase on a natural substrate of fruit polyphenol oxidase. *Nature*, 197, 902-903.
- Fraignier, M. P., Marques, L., Fleuriet, A., & Macheix, J. J. (1995).** Biochemical and immunochemical characteristics of polyphenol oxidases from different fruits of *Prunus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), 2375-2380.
- Frenot M., Vering E., 1997.** Biochimie des aliments, diététique des sujets bien portants, Dion, 282p. fruits and processed date products. *Journal of Food Quality*, 20, 257-266.
- Friedman, M. 1997.** Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1523-1540.
- Gaillard, F., Richard-Forget, F., Nicolas, J. 1993.** New Spectrophotometric Assay for Polyphenol Oxidase Activity. *Analytical Biochemistry*. 215: 59-65.
- Gökmen, V., Borneman, Z. & Nijhuis, H.H. (1998).** Improved ultrafiltration for color reduction and stabilization of apple juice. *J. Food Sci.*, 63, 504-507.
- Gougerot-Schwartz A., 2000.** Alpha -hydroxy -acides et vieillissement cutané *Encycl Méd Chir, Cosmétologie et dermatologie esthétique*, 50-160-C-12, 7p.
- Gouzi H., Coradin, T., Delicado, E.M., Ünäl, U., Benmansour, A. 2010.** Inhibition Kinetics of *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach Polyphenol Oxidase. *The Open Enzyme Inhibition Journal*, 3: 1-7.
- Gouzi, H., Benmansour, A. 2007.** Partial purification and characterization of polyphenol oxidase extracted from *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*. 5: 1-11.
- 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.
- Hicks, K.B., Sapers, G.M. & Seib, P.A. (1990).** Process for preserving raw fruit and vegetable juices using cyclodextrins and compositions thereof. U.S. Patent 4, 975, 293.

- Hsu, A.F., Shieh, J.J., Bills, D.D. & White, K. (1988).** Inhibition of mushroom polyphenol oxidase by ascorbic acid derivatives. *J. Food Sci.*, 53, 765-771.
- Hui, Y. H., Barte, J., Pilar-Cano, M., & Gusek, T. W. (2006).** Handbook of fruit and fruit processing. John Wiley & Sons
- Imandi S.B., Bandaru V.V.R., Somalanka S.R., Bandaru S.R., Garapati H.R., 2008.** Application of statistical experimental designs for the optimization of medium constituents for the production of citric acid from pineapple waste. *Bioresource Technology*. 99:4445-4450
- Janovitz-Klapp A.H. (1989)** Étude sur le système polyphénoloxydasique isolé de la pomme (Malus sylvestris, Var. Red Delicious). Thèse de Doctorat, Université Paris 7, 208p.
- Janovitz-Klapp, A.H. Richard, F.C., Goupy, P. & Nicolas, J.J. (1990a).** Inhibition studies on apple polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 926-931.
- Janovitz-Klapp, A.H. Richard, F.C., Goupy, P.M & Nicolas, J.J. (1990b).** Kinetic studies on apple polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1437-1442.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P. & Brulé G. (2006).** Sciences des aliments, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 383 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.
- Kamzolova S.V., Morgunov I.G., Aurich A., Perevoznikova O.A., Shishkanova N.V., Stottmeister U., Finogenova T.V., 2005.** Lipase secretion and citric acid production in *Yarrowia lipolytica* yeast grown on animal and vegetable fat. *Food technology and biotechnology*.;43(2):113-122.
- Kahn, V. (1985).** Effects of proteins, protein hydrolyzates and amino acids on o-dihydroxyphenolase activity of polyphenol oxidase of mushroom, avocado, and banana. *J. Food Sci.*, 50, 111-115.
- Kavrayan, D., & Aydemir, T. (2001).** Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from peppermint (*Mentha piperita*). *Food Chemistry*, 74(2), 147–154.
- Kelly, S.H. & Finkle, B.J. (1969).** Action of a ring-cleaving oxygenase in preventing oxidative darkening of apple juice. *J. Sci. Food Agric.*, 20, 629-632.
- Kendri S. (1999).** Caractéristiques biochimiques de la biomasse "Saccharomyces cerevisiae" produite à partir des dattes "Variété Ghars". Mémoire d'Ingénieria. 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.
- Klabunde T., Eicken C., Sacchettini J.C., Krebs B., 1998.** Crystal structure of plant catechol oxidase containing a dicopper center. *Nat. Struc. Biol.*, 12
- Kuwabara, T., Katoh, Y. 1999.** Involvement of the binuclear copper site in the proteolytic activity of polyphenol oxidase. *Plant Cell Physiol*. 40: 1029-1035.
- Lax, AR., Vaughn, KC. 1991.** Colocalization of polyphenol oxidase and photosystem II proteins. *Plant Physiol*. 96: 26-31.
- Lee, P. M., Lee, K. H., Ismail, M., & Karim, A. (1991).** Biochemical studies of cocoa bean polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55(2), 251-260.
- Lerch, K. 1995.** Tyrosinase: Molecular and Active-Site Structure. In *Enzymatic browning and its prevention*. C. Y. Lee, J. R. Whitaker (Eds). Washington, DC, ACS Symposium Series 600. American Chemical Society: 64-80.
- Li, Qin Z., Jie Z., Shu-Hua Z., Lai-Hui G., 2009** Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chem.*, 108, 1-13.

- Lopez, A.S., & Dimick, P.S. (1991).** Enzymes involved in cocoa curing. Dans: Fox, P.F. (Ed.), Food Enzymology, Elsevier Science Publishing, New York, pp. 211-236.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J., 1990.** Phenolic compounds in fruit processing. In Fruit Phenolics, CRC Press, Boca Raton, FL, pp.295-357.
- Malkin, B.D; Thickman, K.R; Markworth, C.J; Wilcox, D.E; and Kull, F.J. (2001).** Inhibition of Potato Polyphenol oxidase by Anions and Activity in Various Carboxylate Buffers (Ph 4.8) at Constant Ionic Strength. J. Enzyme Inhibition, Vol. 16, pp. 135-145.
- Mann, H. S., Alton, J. J., Kim, S., & Tong, C. B. (2008).** Differential expression of cell-wall-modifying genes and novel cDNAs in apple fruit during storage. Journal of the American Society for Horticultural Science, 133(1), 152-157.
- 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.
- Martinez, M. V., Whitaker, J. R. 1995.** The biochemistry and control of enzymatic browning. Trends in Food Science and Technology. 6: 195–200.
- Matallah.M.(2004).** Contribution à l'étude de la conservation des dates variété Deglet-Nour: Isotherme d'adsorption et de désorption. Mémoire d'Ingénieria, INA. El-Harrach. Alger. 79 p
- Mathew, A.G. &Parpia, H. A. B. (1971).** Food browning as a polyphénols reaction. Adv. Food Res. 19, 75-145.
- Mayer A.M., Harel E. (1991).** Phenoloxidasés and their significances in fruit and vegetables. In Food Enzymology. P.F. Fox (Ed.). Elsevier Appl. Sci., 323-398.
- Mayer, A.M. &Harel, E. (1979).** Polyphenoloxidasés in plants. Phytochemistry, 18, 193-215.
- McEvily, A.J., Iyengar, R. &Otwell, W.S. (1992).** Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. CRC CritRev Food Sci. Nutr., 32, 253-273.
- Munier P. (1973).** Le palmier dattier. Ed. Maison Neuve et La rose, Paris. pp 25-367.
- Noui Y. (2001).** L'optimisation de la production de la biomasse « saccharomyces cerevisae » cultivé sur un extrait de datte. Mémoire d'ingénieur. Département d'agronomie. Batna. 62p.
- Pierpoint, W.S. (1966).** The enzymaticoxidation of chlorogenicacid and somereactions of the quinine produced. Biochem. J., 98, 567-580.
- Pifferi, PG., Baldassari, L., Cultrera, R. 1974.** Inhibition by carboxylic acids of an o-diphenol oxidase from Prunus avium fruits. J Sci Food Agric. 25: 263-270.
- Quinten M. (1996).** Diversité et structure génétique des populations algérienne de Fusarium oxyporum agent de la fusariose vasculaire (bayoudh) du palmier dattier, Mémoire de doctorat, El Harrach, Alger. 52 p.
- Richarde R., 1972.** Elément de biologie végétale. Fou Cher, Paris, 164p.
- Robb, D.A. 1984.** Tyrosinase. In copper Proteins and Copper Enzymes, ed. R. Lontie. CRC Press, Boca Raton, Florida, 207-241
- Robert, C.M., Rouch, C.C. & Cadet, F.R. (1997).** Inhibition of palmito (*Acanthophoenixrubra*) polyphenoloxidasés by carboxylicacids. Food Chem., 59, 355-360.
- Rodakiewicz-Nowak, J., Ito, M. 2003.** Effect of water-miscible solvents on the Organic Solvent Resistant Tyrosinase from Streptomyces sp. REN-21. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 78: 809-816.

- Ros, J.R; Rodríguez-López, J.N; and García-Cánovas, F. 1993.** Effect of L-ascorbic acid on the monophenolase activity of tyrosinase. *Biochem. J.* 295, 309-312 (Printed in Great Britain).
- Rouet-Mayer, M.A., Philippon, J. & Nicolas, J. (1993).** Enzymatic browning , biological aspects. In : McRea, R.,
- Rico D., Martin-Diana A.B., Barat J.M., Barry-Rynac., 2007.** Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetable : a review. *Trends Food Sci. Technol* 18, 373-86.
- Sánchez-Ferrer, Á ; Rodríguez-López, J.N; García-Cánovas, F; García-Carmona, F. 1995.** Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1247. 1-11
- Sapers, G.M. (1993).** Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. *J. Food Sci.*, 57, 1192-1193.
- Sayavedra-Solo, L.A. & Montgomey, M.W. (1986).** Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. *J. Food Sci.*, 51, 308-310.
- Sawaya, W. N., Khalil, J. K., Safi, W. N., & Al-Shalhat, A. (1983).** Physical and chemical characterization of three Saudi date cultivars at various stages of development. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 16(2), 8792.
- Shahidi et Nacz, 2004.** Date fruits production and processing. Dans: Hui, Y.H. (Ed.), *Handbook of Fruits and Fruit Processing.* Blackwell, Oxford, pp. 391–419.
- Siboukeur O. (1997).** Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. *Memoire de Magister, INA.* El-Harrach, Alger. 106 p.
- Siddiq, M. & Greiby, I. (2014).** Overview of Date Fruit Production, Postharvest handling, Processing, and Nutrition, Dans: Siddiq, M., Aleid S. M. & Kader A. A. (Eds.), *Dates: Postharvest Science, Processing*
- Soccol C.R., Vandenberghe L.P.S., Rodrigues C., Pandey A., 2006.** New perspectives for citric acid production and application . *Food technology and biotechnology* .44(2): 141-149.
- Steffens, J.C., Harel, E., Hunt, M.D., Thipyapong, P. 1998.** Polyphenol oxidase. In *Polyphenols 96.* Editors: J. Vercauteren, C. Chèze, J. Triaud. Editions. INRA, Paris (Les Colloques, n°87) : 230-250
- Technology and Health Benefits (1ère éd.).* John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1-28.
- Tang, Z. X., Shi, L. E., & Aleid, S. M. (2013).** Date fruit: chemical composition, nutritional and medicinal values, products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(10), 2351-2361
- 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.
- Todaro A., Cvallaro R., Argento S., Branca F., Spagna G., 2011.** Study and characterization of polyphenol Oxidase from eggplant ( *Solanum melongena* L.), *J. Agric. Food Chem.* 59:11244-11248.
- Turner, E.M. 1974.** Phenoloxidase activity in relation to substrate and development stage in the mushroom, *Agaricus bisporus*. *Transactions of the British Mycological Society.* 63: 541-547.
- Ünal, M.Ü. 2007.** Properties of polyphenol oxidase from Anamur banana (*Musa cavendishii*). *Food Chemistry.* 100: 909-913.
- Ullah, M.R. (1991).** Tea. Dans: Fox, P.F. (Ed.) *Food Enzymology.* Elsevier Science Publishing, New York, pp. 163-187.

- Valero, E.; García-Carmona, F. (1998).** pH-dependent effect of sodium chloride on latent grape polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* 46, 2447–2451.
- Valero, Penafiel, R., Galindo, J.D., Solano, F., Pedreno, E., Iborra, J. L. & Lozano, J.A. (1984).** Kinetic study of the interaction between frog epidermis tyrosinase and chloride. *Biochim. Biophys. Acta.*, 788, 327-332.
- Vámos-Vigyázó, L. 1981.** Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 15: 49-127
- Van Gelder C.W.G., Flurkey W.H. et Whichers H.J. (1997).** Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. *Phytochemistry*, 45, 1309-1323.
- Vaughn KC., Lax AR., Duke SO. 1988.** Polyphenol oxidase : The chloroplast oxidase with no established function. *Physiol. Plant.* 72: 659-665.
- Vaughn, KC., Duke, SO. 1984.** Function of polyphenol oxidase in higher plants. *Physiol. Plant.* 60:106-112.
- Voldrich, M., Dupont, D., Dobias, J. & Philippon, J. (1995).** HPLC determination of thiol-containing anti-browning additives in fruit and vegetable products. *Lebensm Wissu-Technol.*, 28, 213-217.
- Vroquaux, 1978.** Contribution à l'étude des propriétés de m'o-diphénoloxydase du champignon de paris (*Agaricus bisporus*). Thèse doct., faculté des sciences de la vie et de l'environnement de l'université de Dijon, 131p.
- Wada, S; Ichikawa, H; and Tatsumi, K. 1993.** Removal of Phenols from Wastewater by Soluble and Immobilized Tyrosinase. *Biotechnology and Bioengineering*, 42, 854-858.
- Walker, JRL., Ferrar, PH. 1998.** Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance. *Biotech. Gen. Eng. Rev.* 15: 457-498.
- Whitaker J., Lee C.Y. (1995).** Recent advances in chemistry of enzymatic browning. In *Enzymatic browning and its prevention*, Whitaker J., Lee C.Y. (Eds). ACS symposium series 600, American Chem. Soc., 2-7.
- Whitaker J.R., Martinez M.V. (1995).** The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Sci. Technol.*, 6, 195-200.
- Whitaker, J.R. (1995).** Polyphenol oxidase. In *Food Enzymes Structure and Mechanism*, (D.W.S. Wong, ed.). 271-307, Chapman and Hall, New York.
- Whitaker, JR. 1995.** Polyphenol oxidase. In: WONG, D.W.S. (Ed.) *Food enzymes: Structure and Mechanism*. New York: Chapman and Hall. 271-307.
- Yahia, E. M., & Kader, A.A. (2011).** Date (*Phoenix dactylifera* L.). Dans: Yahia E. M (Ed), *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*. Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, pp. 41–79.
- 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.
- Yoruk, R., & Marshall, M. R. (2003).** Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *Journal of Food Biochemistry*, 27(5), 361-422.
- Zawistowski, J., Biliaderis, C.G. & Eskin, N.A.M. (1991).** Polyphenol oxidase. Dans: Robinson, D.S.R. & Eskin, N.A.M. (Eds.), *Oxidative enzymes in foods*. Elsevier Appl. Sci., London, pp. 217-273.
- Zinkernagel, V. (1986).** Untersuchungen zur Anfälligkeit und resistenz von Kopfsalat (*Lactuca sativa*) gegen falschen Mehltau (*Bremia lactucae*). III. Peroxidase, peroxidatische Katalase und polyphenoloxydase Aktivitäten. *J. Phytopathol.* 115: 257-266.

**Ziyan, E., Pekyardimci, S. (2004).** Purification and characterization of pear (*Pyrus communis*) polyphenol oxidase. Turk J Chem. 28: 547-557.

**الملخص:** كان الهدف من هذا العمل دراسة حركية تثبيط نشاط البيروقالو للبوليفينول أوكسيداز لتمر دقلة نور ( *Phoenix dactylifera L.*) بواسطة حمض البنزويك كمتبط. كما توبع قياس نشاط البوليفينول أوكسيداز بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجة 333 نانومتر، و درجة حموضة 4.5، و 30° م وهذا باستخدام البيروقالول كدعامة.

نشاط البوليفينول أوكسيداز يثبط بـ حمض البنزويك بالرغم أن التراكيز ضعيفة. قيمة  $IC_{50}$  لحمض البنزويك تقدر بـ (2.47 ميليمول).

أظهرت بيانات Linerweaver-Burk أن حمض البنزويك هو مثبط تنافسي قادر على منافسة نشاط البيروقالول أوكسيداز لتمر دقلة نور مع قيمة ثابت التوازن يساوي ( 1.02 ميليمول). حمض البنزويك هو مركب كيميائي طبيعي يمكن إستعماله من أجل مراقبة التشوه الإنزيمي للتمر أثناء تخزينها وتحويلها.

**الكلمات المفتاحية:** تمر، دقلة نور، بوليفينول أوكسيداز، بيروقالول، حمض البنزويك، مثبط تنافسي.

---

**Résumé :** Ce travail avait pour objectif d'étudier la cinétique d'inhibition de l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet nour (*Phoenix dactylifera L.*) par l'acide benzoïque comme inhibiteur. L'activité enzymatique a été mesurée par spectrophotométrie à 333 nm, à pH 4.5 et à 30°C, en présence du pyrogallol comme substrat. L'activité pyrogallol oxydase est fortement inhibée par l'acide benzoïque. La valeur d' $IC_{50}$  de l'acide benzoïque estimée à 2.47 mM. La représentation de Lineweaver-Burk indique que l'acide benzoïque est un inhibiteur compétitif de l'activité pyrogallol oxydase de la PPO de datte Deglet nour avec une valeur de  $K_i$  égale à 1.02 mM. L'acide benzoïque est un composé chimique naturel peut être utilisé pour le contrôle du brunissement enzymatique des dattes au cours de leur stockage ou leurs transformations.

**Mots clés :** datte, Deglet nour, polyphenol oxydase, pyrogallol, inhibiteur compétitif, acide benzoïque.

---

**Abstract :** This work was aimed to study the inhibition kinetic of pyrogallol oxidase activity of date Deglet nour (*Phoenix dactylifera L.*) Tul.) with benzoic acid as inhibitor.

PPO activity was measured by spectrophotometric at 333 nm (pH 4.5, 30°C) using pyrogallol as substrate. The pyrogallol activity was significantly inhibited by benzoic acid. The  $IC_{50}$  value was estimated to be 2.47 mM. The Lineweaver-Burk representation show that benzoic acid act as competitive inhibitor on the pyrogallol activity of the datte PPO with  $K_i$  value of 1.02 mM. Benzoic acid is a natural compound without a side effect, can be used efficiently for controlling enzymatic browning of datte during their storage or processing.

**Keywords:** datte, Deglet nour, polyphenol oxidase, pyrogallol, inhibition, benzoic acid.