

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE 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

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

**Étude phytochimique et propriétés antioxydantes
de l'extrait méthanolique de quelques variétés de
dattes d'Algérie**

Présenté par :

M^{lle}. BAIRA Khadidja

M^{lle}. TOURBIMeriem

Devant le jury :

Président : M. CHAIBI Rachid

Université Amar Télidji-Laghouat

Encadreur : M. GOUZI Hicham

Université Amar Télidji-Laghouat

Co-encadreur : M. BENACEUR Farouk

Université Amar Télidji-Laghouat

Examineur : M. LEBOUKH Mourad

Ecole Nationale Supérieure de Ouargla

Soutenu publiquement le : Juin 2018

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon très cher père ZOUKEL , je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.

A deuxième papa TOURBI Mohammed qui est m'aidé pour faire le premier pas dans mon étude

A l'hnina m'a mère BARKAHOUM , qui ma supportée et m'a aidée dans les pires moments, car tu as toujours cru en moi, je suis que je suis maintenant ; merci maman. A deuxième maman Zeineb

A mes vrais sœurs :BOULEBAA Rguia ;OMARI Aicha ; FERDI Lalia ;MAHROUFI Fatiha ;MAAROUFI Fatiha ;BAIRA khadidja mon binôme de ce travail et MAHI Rachda ;merci mon miracle de ma vie.

A toute ma petite famille :

*** A mon frère : Antar .*

Et grand frère TOURBI Sassi

A HARIRI Touhami

*** A mes sœurs : 'Amina ,Aicha ,Adeiba ;Mahbouba ,Zohra ,Khaira'*

et les petites filles : djenna ,asmaa,barkahoum,asmahen , fatiha, Meriem ;Meriem ;houria ; eldjenna

et les petits garçons :Ibrahim ;Mohammed

Sans oublier mon cher grand père de ma mère Ali et sa famille pour leurs aides morales, leurs conseils précieux, et leurs encouragements ; Je ne peux témoigner ma reconnaissance.

A Les familles BOUDELAA , BEN ABD ERAHMEN et MAIDI qui m'aident lors la période de soutenance

A mon encadreur monsieur GOUZI Hicham .

A tous la promotion de 2017- 2018 .

Merci à tous

MERIEM

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A la lumière de mes jours, la flamme de mon coeur,
la source de mes efforts, ma vie et bonheur; ma mère
ZOHRA , qui me donne toujours l 'espoir de vivre et
qui n'a jamais cessé de prier pour moi.*

A l'esprit de mon père pur, que dieu accord son âme .

A mes très chéries frères : habib ;kadeur

A mes très chéries soeurs : zineb ;meriem ;aicha

*A mes grandes mères fatima et mansoura ;et ma grandes père
abdelaaziz .*

*A mes chéries tentes :kheira ;reguia ;aicha et mes
oncles :abdelouaheb et sa femme horia ;belaabas et sa femme
sanja ;abdeldjabar mouhamed ;ahmed*

A ma chérie et ma binôme dans ce travail : tourbi meriem

A mes très chéries cousines : lalia et noura

A les petits pupilles de la familles : fatima, fatima, et farah

*A mes meilleurs amis et sœurs : Reguia ; Aicha ;Fatiha mah ; Fatiha
maa ; et Rachda*

*A mes chères nurses qui ont le grand faveur à moi : sediki fatna et
maidi hania*

A ma famille baira

A mon encadreur monsieur GOuzi Hicham .

*A la fin je dédie très chaleureusement ce mémoire à
Tous ce qui m'aide dans ce travail.*

khadidja

REMERCIEMENTS

Nous remercions le bon dieu qui nous a donné le courage, la patience et la force de continuer jusqu'à pouvoir mener la graine au fruit.

Nous exprimons nos profondes gratitudee à nos parents pour leur encouragement, leur soutien et pour les sacrifices qu'ils ont enduré.

Au terme de ce modeste travail nous tenons à remercier chaleureusement et respectivement :

Monsieur **Hichem GOZI**

Monsieur **Farouk BENACEUR**

Monsieur **Khaled LAGRAA**

Mes remerciements sont également adressés à l'ensemble des membres du jury, pour leur disponibilité et l'intérêt qu'ils ont accordé au présent travail :

À M. R.CHAIBI, pour avoir accepté d'être président de ce jury, ainsi que pour les conseils qu'il m'apporte.

À Mr. M.LABOUKH, pour avoir accepté de juger ce travail et de participer au jury.

Nous tenons à remercier très chaleureusement tous les enseignants de la département de biologie et tous les ingénieures de laboratoire

On vous remercie vivement pour ce modeste travail, vous avez géré par mesure et avec une sagesse exceptionnelle .

Aussi en particulier pour votre extrême gentillesse et pour tous les efforts précieux , vos conseils qui ont été le grand source à fin de concevoir ce travail .

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

***Introduction* 1**

Synthèse bibliographiques

I. Généralités sur le palmier dattier..... 3

I.1 Historique sur le palmier dattier..... 3

I.2 Définition..... 4

I.3 La classification botanique..... 4

I.4 Ecologie..... 4

I.5 Cycle biologique du palmier dattier..... 5

II. Généralités sur la datte..... 5

II.1 Définition..... 5

II.2 Formation et maturation..... 6

II. 3 Classification des dattes..... 7

II. 4 Composition biochimique de la datte..... 8

III. Les oxydants, les antioxydants et le stress oxydatif 8

III.1 Les radicaux libres 8

III.1.1 Définition..... 8

III.1.2 Les types des radicaux libres..... 9

III.1.3 Rôle physiologique de radicaux libres..... 9

III.2 Les antioxydants..... 9

III.2.1 Définition..... 9

III.2.2 Antioxydants naturels..... 10

III.2.2.1 Antioxydants enzymatiques..... 10

III.2.2.2 Antioxydants non enzymatiques 11

III.2.3 Antioxydants synthétiques 15

IV. Stress oxydatif..... 15

IV.1 Définition..... 15

IV.2 Stress oxydatif et atteintes pathologiques..... 15

Matériels et méthodes

Sommaire

I. Matériels.....	17
II.1 Matériel biologique	
.....	
II.2 Produits chimiques.....	18
II. Méthodes	18
II.1 Préparation de l'extrait méthanolique	18
II.2 Tests phytochimiques.....	18
II.2.1 Les composés réducteurs	19
II.2.2 Les acides aminés	19
II. 2.3 Les phénols.....	19
II.2.4 Les flavonoïdes	19
II.2.5 Les stérols et les triterpènes.....	19
II.2.6 Les saponosides	19
II.2.7 Les alcaloïdes	20
II.3. Dosage des polyphénols totaux.....	20
II.3.1 Principe	20
II.3.2 Méthode	21
II.4. Dosage des caroténoïdes.....	21
II.5. Dosage flavonoïdes	21
II.5.1 Principe de la méthode.....	21
II.5.2 Protocole expérimentale.....	21
II.6. Evaluation des activités antioxydante et antiradicalaire	22
II.6.1. Test DPPH.....	22
II.6.1.1. Principe du test.....	22
II.6.1.2. Méthode	23
II.6.2. Méthode de la réduction de fer (FRAP)	24
II.6.2.1 Le principe.....	24
II.6.2.2 Le protocole expérimental.....	24
II.6.3 Test ABTS	24
II.6.3.1 Principe	24
II.6.3.2 Le protocole expérimental.....	25
Résultat et discussion	
I. Rendement d'extraction.....	26

Sommaire

II. Tests phytochimiques.....	26
III. Teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en caroténoïdes.....	27
IV.Détermination du pouvoir antioxydant et antiradicalaire.....	28
IV.1 Test du piégeage du radical DPPH	28
IV.2 Test de piégeage du radical ABTS.....	31
IV.3 Evaluation du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)	32
Conclusion	33
Références	34

Liste des tableaux

Titre	page
Tableau 01. Stades de développement des dattes	7
Tableau 02. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote d'intérêt biologique	9
Tableau 03. Les principales classes de composés phénoliques.....	14
Tableau 04. Les sept variétés de dattes utilisées lors de cette étude.	17
Tableau 05. Rendement d'extraction (%) de quelques variétés de dattes	26
Tableau 06. Résultats des tests phytochimiques sur sept variétés des dattes	27
Tableau 07. Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en caroténoïdes des extraits méthanoliques de sept variétés de datte d'Algérie.	27
Tableau 08. Les valeurs d'EC ₅₀ des activités antioxydantes de l'extrait méthanolique des sept variétés de datte d'Algérie.	30

Liste des figures

Titre	page
Figure 01. Datte et noyau du palmier dattier	6
Figure 02. montre une coupe réelle au niveau de datte	6
Figure 03. Structure de l'acide ascorbique	12
Figure 04. La structure de base des tocophérols et tocotriénols.....	13
Figure 05. Organisation des radicaux libres et leur impact sur la santé humaine	16
Figure 06. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	20
Figure 07. Courbe d'étalonnage de quercétine (mg/ml) pour le dosage des flavonoïdes.	22
Figure 08. Structure chimique du radical DPPH et de sa forme réduite.	22
Figure 9. Structure des formes réduite et du radical cation de l'ABTS	24
Figure 10: Solution radicalaire de $ABTS^{\cdot+}$ obtenue après ajout des ions persulfates.....	29
Figure 11. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH $^{\cdot}$ en fonction des concentrations des extraits méthanoliques des sept variétés de dattes étudiées (A) et de l'acide ascorbique (B).	30
Figure 12. Courbes représentant la variation du pourcentage de réduction d'ABTS en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de sept variétés de datte (A) et de la concentration d'acide ascorbique (B).	31
Figure 13. Courbes représentant la variation des absorbance à 593 nm en fonction des concentrations des extraits méthanoliques de sept variétés de datte (A) et de l'acide ascorbique (B) obtenues par le test de FRAP.	32

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
BHA	Butylated hydroxyanisole
BHT	butylhydroxytoluène
TBHQ	tertiobutylhydroquinone
PG	propylgallate
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
ERN	Espèces réactives de l'azote
SOD	superoxydedismutase
GSH-Px	Glutathion peroxydase
GSH-R	Glutathion réductase
GR	glutathion réductase
NADPH	Nicotinamide -Adenine-dinucleotide-Phosphate
LP	peroxydation de lipide
%	Pourcentage
µg /ml	Microgramme par millilitre
DPPH	2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
Cm	centimètre
MS	matiere sèche
nm	nanomètre
ARP	Puissance anti radicalaire
TPTZ	2,4,6-tris-2,4,6-tripyridyl-2-triazine
ABTS	l'acide 2,2-O-azino-bis (3-ethylbenzoline-6-sulphonique)
EC50	concentration d'inhibition de 50%
FRAP	Ferric reducing antioxidant power

Liste des abréviations

g	gramme
g/l	gramme par liter
mg	milligramme
min	minute
ml	millilitre
UV-Vis	ultra violet-visible
V	Volume
°C	Degrés Celsius
µl	microlitre
EC50	Concentration d'effet antioxydante de 50% des radicaux libres

Introduction

De par sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, le Sahara et est auteur de points d'eau. Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie algérienne et pour le maintien de l'équilibre écologique de la région.

Du fait de leurs abondances dans la nature et de leurs utilisations par les populations locales pour se soigner, certaines plantes se sont imposées dans le monde médicinal.

Depuis des millénaires, l'homme puise dans son environnement les connaissances nécessaires à sa survie et à son bien-être. Avant même de posséder l'usage du langage, il pouvait transmettre l'expérience de la médecine et de tous types de remèdes naturels pour finalement élaborer ce que nous appelons aujourd'hui « la médecine traditionnelle ».

Ces dernières années, le recours à la médecine traditionnelle s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité, non seulement les populations des pays en développement qui y ont accès, mais aussi ceux des pays où la biomédecine occupe une grande place dans les systèmes de santé. L'étude de ces connaissances ancestrales par les sciences modernes révèle progressivement quelques secrets de la nature qui permettent à l'homme de poursuivre son évolution.

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme captateurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme. Ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaires à des mécanismes vitaux. La surproduction de ces radicaux peut être néfaste pour l'organisme. En effet, ils endommagent de nombreux composants cellulaires aussi divers tels que les protéines, les lipides ou l'ADN en entraînant un stress oxydatif.

Les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt dans le traitement de certaines pathologies, ils sont aussi utilisés pour la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire (par exemple empêcher l'oxydation des lipides) (Pan et *al.*, 2008).

Au bout des dernières années les antioxydants commerciaux utilisés étaient des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), le tertio-butylhydroquinone (TBHQ) et le propylgallate (PG); mais ils ont été suspectés de posséder une certaine toxicité et qu'ils étaient responsables de dommages causés dans le foie et de carcinogénèse. De ce fait, l'importance des antioxydants s'est focalisée sur le

développement de la recherche et l'isolation des antioxydants naturels à partir des végétaux et cela pour remplacer ceux qui sont synthétiques (Pan et *al.*, 2008 ; Atmani et *al.*, 2009).

La plupart des antioxydants isolés à partir des plantes sont des polyphénols. Dans cette famille, on retrouve une classe de métabolites secondaires reconnus responsables de ces nombreuses activités biologiques comme les flavonoïdes qui sont dotés d'activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-carcinogènes (Ghedira, 2005).

Plusieurs études ont confirmé la contribution des polyphénols et des flavonoïdes des extraits végétaux à l'activité antioxydante *in vitro*. Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives.

Les propriétés antioxydantes et antiradicalaire des dattes commercialisées en Algérie, en Tunisie et au Maroc n'ont pas été suffisamment étudiées par rapport aux autres fruits (Mrabe et *al.*, 2015 ; Bouhlali et *al.*, 2016 ; Benmeddour et *al.*, 2013 ; Kchaou et *al.*, 2013).

Par conséquent, l'objectif principal de notre étude consiste à la recherche des activités antioxydante et antiradicalaire des extraits bruts de sept variétés de dattes d'Algérie en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction.

Ce mémoire présenté en trois grandes chapitres est séquencé comme suit. Le premier chapitre concerne un rappel bibliographique sur le palmier dattier, la datte, les antioxydants et le stress oxydatif. Le deuxième chapitre décrit les principales les procédures expérimentales. Le troisième chapitre est consacrée à une discussion des résultats obtenus. Enfin, une récapitulation succincte des résultats ainsi que les perspectives ouvrant la voie à des études ultérieures, sont regroupées dans la conclusion.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le palmier dattier

I.1 Historique sur le palmier dattier

Le palmier dattier pu exister à l'état spontané dans plusieurs régions, au moyen orient et en Afrique, en particulier en certains points du Sahara comme le Fezzan.

Arbre des zones semi-arides et arides, il est présent, sur le pourtour méditerranéen, de la Mauritanie à l'Arabie, et au-delà, en Iran, jusqu'à l'Indus, il a été domestiqué avant plus 5000 années. A l'origine de l'ère Mésopotamie (Munier, 1981). Deux hypothèses ont été proposées sur son l'origine, l'une considère que le palmier descende d'une ou de divers espèces de genre *Phoenix* cultivés localement dans leur milieu naturelle. L'autre qui la considère comme un hybride issu de plusieurs espèces non classé de genre *Phoenix* (Bennaceur et al. ,1991).

Les Sumériens auraient été les premiers phéniculteurs, dans la région du Shatt al Arab, entre le Tigre et l'Euphrate (Benchelah et Maka, 2006). On possède de nombreuses preuves d'une pratique très ancienne, datant de plus de quatre mille ans en par exemple, où des palmiers cultivés sont représentés dans les tombes des pharaons dès le Moyen Empire. Selon des rapports de fouilles, dans la sépulture de Toutankhamon (datant de 1300 avant notre ère) donc au Nouvel Empire (Reeves N, 2003, Benchelah et Maka, 2006).

Dans le Sahara, au Tassili, sur les parois rocheuses, quelques palmiers ont été représentés dans un contexte de figures schématisées (Benchelah et Maka, 2006). Ces œuvres peintes remontent à la période la plus récente de l'art rupestre. Si on ne peut donner de datation précise de ces peintures, les représentations correspondent bien à ce qu'Hérodote, cinq siècles avant notre ère, nous apprend sur les oasis sahariennes du désert Libyque où les tribus nomades pratiquaient la récolte des dattes(Hérodote, 1988). La plus parts des chercheurs pensent que *Phœnix dactylifera*est l'espèce végétale la plus ancienne cultivée au Sahara, néanmoins l'associer obligatoirement aux avancées berbères à travers ce désert n'est pas du tout prouvé. La phéniculture y aurait été introduite par les phéniciens. Dans la Bible, le palmier et les dattes sont bien sûr cités, mais ils sont surtout évoqués dans de nombreuses sourates du coran. C'est un des bienfaits accordés par Dieu aux croyants, n'est-ce pas au pied du dattier que Marie se retire pour accoucher, où un ange lui conseille de secouer le tronc : «*Il fera tomber sur toi des dattes fraîches bonnes à cueillir!* »(Sourate 19. Mariam).La tradition puis les poètes ne cesseront de le vanter, ce qui reflète son importance dans toute la zone orientale.

I.2 Définition

Le palmier dattier : *Phoenix dactylifera 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 (Djerbi, 1994).

Le dattier c'est une espèce dioïque, monocotylédone arborescente, appartenant à une grande famille d'arbres à palmes et produit des dattes (Gilles, 2000; Mazoyer, 2002).

Il s'agit d'une herbe géante qui s'élève à plus de 20 mètres de haut : un stipe élancé, plutôt qu'un vrai tronc, sans cerne de croissance, terminé par un unique bourgeon d'où émerge un panache de longues feuilles pennées de 5 à 6 mètres de long. Il ne porte jamais de branches : le long du stipe, on distingue les cicatrices foliaires, trace des palmes sèches. C'est seulement au bout de quatre à cinq ans, quand il fleurit et que les spathes éclatent laissant apparaître une grande quantité de fleurs, qu'on reconnaît l'arbre mâle de l'arbre femelle. Ses fruits les dattes, se présentent en énormes grappes, les régimes, formés de très nombreuses branchettes. En effet, il suffit d'un noyau semé pour donner une pousse, mais de nombreux rejets vont envahir la base du stipe qu'il faudra ensuite élaguer (Brac de la Perrière, 1995). L'entretien seul assure son allure au dattier. L'intervention de l'homme s'avère indispensable à toutes les étapes de sa croissance. C'est donc bien d'un arbre domestiqué qu'il s'agit (Benchelah et Maka, 2006).

I.3 La classification botanique

La place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous (Feldman, 1976) :

Groupe: Spadiciflores

Ordre :Palmale

Famille : Palmacées

Sous famille :Coryphoïdées

Tribu :Phoenicées

Genre :*Phoenix*

Espèce :*Dactylifera L.*

Le genre *Phoenix* comporte au moins douze espèces, la plus connue est le *dactylifera*, dont les fruits " dattes " font l'objet d'un commerce international important (Espiard, 2002).

I.4 Ecologie

Les palmiers sont de la famille des palmacées ou acéracées. Les palmiers sont à l'origine, des arbres des régions tropicales humides, mais au cours des âges, ils se sont adaptés aux climats chauds, semi-arides ou arides.

En Afrique subsaharienne, cette famille est largement représentée, au Sahara, on n'en rencontre que deux espèces, d'une importance économique majeure, *Hyphaenethebaïca*, le palmier doum, *Phœnix dactylifera*, le palmier dattier (Benchelah et Maka, 2006).

Les palmiers dattiers sont cultivés comme arbres fruitiers dans les climats cités. Ces arbres peuvent s'adapter à de nombreuses conditions grâce à leur grande variabilité (Gilles, 2000).

Elles sont connues : une température constante supérieure à 30°C (espèces thermophile) pendant la maturation, une forte luminosité, une humidité relative faible, surtout pas de pluie sur les fruits. L'arbre veut un sol toujours humide et il supporte même un léger degré de salinité (Munier, 1973 ; Toutain, 1979). Aussi la proximité d'un cours d'eau ou d'une nappe phréatique importante est-elle nécessaire (Benchelah et Maka, 2006). Si l'eau n'est pas en quantité suffisante, il faut irriguer et arroser. D'ailleurs, les Sahariens disent que pour produire de bons fruits « le dattier doit avoir la tête dans le feu et les pieds dans l'eau. La palmeraie est donc indissociable de l'oasis, qui seule, correspond dans le désert aux conditions de microclimat requises (Benchelah et Maka, 2006).

I.5 Cycle biologique du palmier dattier

L'arbre consiste de plantes mâles et femelles, et c'est sur la plante femelle que se développent les fruits ou dates. Un plant mâle est capable de polliniser entre 40 à 50 plantes femelles. Le palmier dattier produit entre 5 et 15 bouquets de par arbre. Chaque bouquet peut contenir jusqu'à 1000 dates correspondant à un poids approximatif entre 6 à 8 kg. Un arbre de palmier commence à produire des dates à partir de 3 ans, mais généralement entre 3 et 5 ans. Il peut rester vivant et productif pendant 150 ans environ (Benchelah et Maka, 2006).

II. Généralités sur la datte

II.1 Définition

La datte, fruit du palmier dattier, est une baie, généralement de forme allongée, oblongue ou arrondie. Elle est composée d'un noyau, ayant une consistance dure, entouré de chair Figure (1). La partie comestible de la datte, dite chair ou pulpe, est constituée d'un :

- *péricarpe* ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau ;
- *mésocarpe* généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue ;
- *endocarpe* teinte plus clair et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau Figure (1) et (2) (Espiard, 2002).

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Leur couleur va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs ambre, rouges, brunes plus ou moins foncées (Djerbi, 1994). La chair et le noyau représentent environ 85 à 90% du poids total du fruit (Hussein, Alhadrami, & Khalil, 1998).

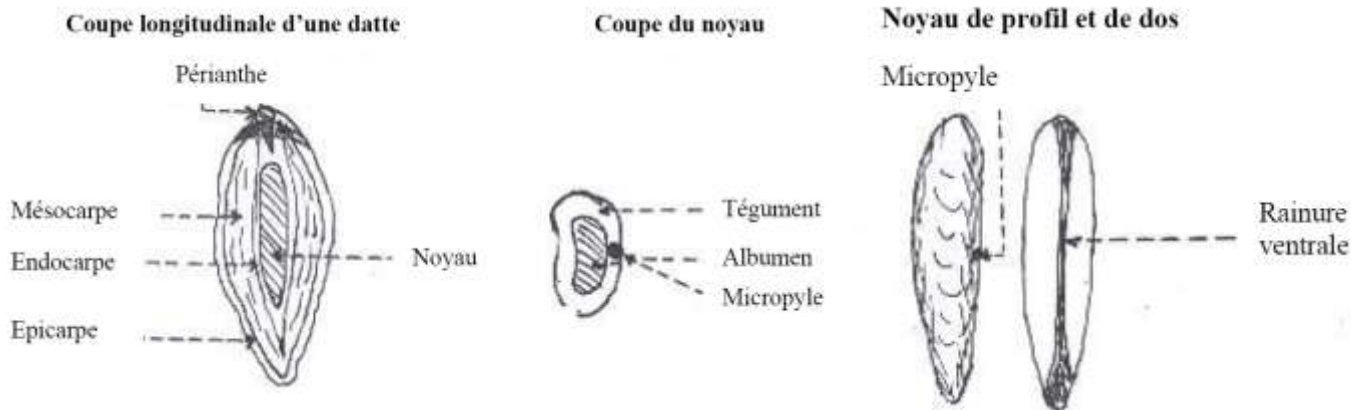


Figure 1 : Datte et noyau du palmier dattier (Buelguedj, 2001).



Figure 2 : montre une coupe réelle au niveau de datte (Chibane, 2008)

II.2 Formation et maturation

Les fleurs fécondées, à la nouaison, donnent un fruit qui évolue en taille, en consistance et en couleur jusqu'à la récolte (Gilles, 2000). La datte passe par différents stades d'évolution (Sawaya *et al*, 1983 ; Benchabane *et al*, 1996 ; Al-Shahib *et Marshall*, 2002).

Le Tableau (1) présente les stades d'évolution de la datte et les appellations utilisées en Afrique du Nord et en Irak.

Tableau .1 : Stades de développement des dattes (Djerbi, 1994).

Pays	Stades de développement de la datte				
	I	II	III	IV	V
Irak	Hababouk	Kimiri	Khlal	Routab	Tamr
Algérie	Loulou	Khlal	Besr	Martouba	Tamr
Libye	-	Gamag	Bser	Routab	Tamr
Mauritanie	Zeï	Tefejena	Engueï	Blah	Tamr

les 5 stades de maturation phréologique cités ultérieurement et repris dans toutes la bibliographie IPGRI (2005), Bekr (2002), Belguedj (2002), Barreveld (1993), Okaidi (1987), Munier (1973) et Dawson (1963) sont les suivants :

Khalal : Stade qui suit immédiatement la fécondation. A la fin de ce stade la datte est de forme arrondie, de couleur jaunâtre à reflets verdâtres (Bousdira, 2007)

Blah : C'est durant ce stade que la datte grossit rapidement et prend une couleur vert pomme.

Bser : Stade de développement de la datte elle prend sa forme et sa taille finale et passe de la couleur verte à une autre couleur caractéristique du cultivar : jaune, brun, noire, rouge (IPGRI, INRAs/PNUD, FEM, 2005)

Rotab : Ce qui caractérise ce stade c'est l'apparition progressive de points d'amollissement. En général selon Cavell (1947) et Turell (1940) ce changement de texture commence par la partie supérieure de la datte (côté périlanthe). La datte devient translucide, sa peau passe du jaune, chrome à un brun presque noir ou vert selon les variétés.

Tmar : Stade où la datte est complètement mûre. La consistance du fruit est comparable à celle du raisin et des prunes. Dans la plupart des cultivars, l'épicarpe adhère au mésocarpe et se ride au fur et à mesure que celui-ci diminue de volume. La couleur de l'épiderme et de la pulpe fonce progressivement.

II. 3 Classification des dattes

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

- Dattes molles : Ahmar (Mauritanie), Kashram et Miskani (Egypte, Arabie-Saoudite) ;
- Dattes demi-molles : Deglet-Nour (Tunisie, Algérie), Mehjoul (Mauritanie), Sifri et Zahidi (Arabie-Saoudite) ;
- Dattes sèches de consistance dure : Degla-Beïda et Mech-Degla (Tunisie et Algérie), Amersi (Mauritanie).

II. 4 Composition biochimique de la datte

Les dattes (*Phoenix dactylifera*L.) constituent spécifiquement un important aliment dans les régions arides et semi-arides du monde, elles contiennent des carbohydrates de 44 à 88%, principalement du fructose, du glucose et du saccharose ; des lipides de 0.2 à 0.5% ; des protéines de 2.3 à 5.6% ; des fibres diététiques de 6.4 à 11.5% ; des éléments minérales (le pourcentage de chaque minérale dans les dattes sèches varie de 0.1 à 916 mg/100g de datte), et des vitamines (comme vitamine C, B1, B2, A, riboflavine et niacine) (Al-Hooti et al., 1995; Al-Shahib et Marshal, 2003; Sawaya et al., 1982).Le taux en eau des dattes est variable, et peut atteindre au maximum 25% (Belarbi et al., 2000).

En plus de sa valeur nutritionnelle, les dattes sont riches en composés phénolique qui possèdent une activité antioxydante (Mansouri et al, 2005 ; Vayalil, 2002 ; Al-Farsi et al, 2005 ; Vinson et al, 2005). Les dattes sont aussi une bonne source des macroéléments comme le phosphore, le fer, potassium et d'une quantité importante en calcium (Gamil-Abdel-Hafez et al., 1980; Anwar-Shinwari, 1987).

III. Les oxydants, les antioxydants et le stress oxydatif

III.1 Les radicaux libres

III.1.1 Définition

Un radical libre est une molécule avec un ou plusieurs électrons non appariés dans l'orbitale externe. Cette propriété les rend très instable et très réactif, en essayant de capturer l'électron nécessaire à partir d'autres composés pour obtenir la stabilité. Lorsque la molécule attaquée perd son électron, elle devient elle-même un radical libre, commençant une réaction en chaîne. Plusieurs de ces radicaux libres sont sous forme des espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que: le radical superoxyde (O_2^{\bullet}), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le radical pyroxyde (ROO^{\bullet}) et de l'azote: tels que le radical oxyde nitrique (NO^{\bullet}), ceux-ci peuvent se produire, en raison du stress oxydatif provoqué par un déséquilibre du système de défense antioxydant corporel.

Les ERO attaquent les molécules biologiques telles que les lipides, les protéines, les enzymes, l'ADN et l'ARN menant aux dommages de la cellule ou du tissus liés au vieillissement(Meenakshi et al., 2009 ; Surh et Packer, 2005).

III.1.2 Les types des radicaux libres

Les principaux ERO et les ERN sont présentés dans le Tableau (2) suivant:

Tableau 2: Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote d'intérêt biologique (Devasagayam et *al*, 2004).

Espèces réactives	Symbole	Demi-vie (en sec)	Réactivité / Remarques
Espèces réactives de l'oxygène			
Superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	10^{-6}	Généré dans les mitochondries, dans le système cardio-vasculaire et d'autres
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}	10^{-9}	Très réactif, générés pendant la surcharge en fer et les conditions de notre corps.
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Stable	Formé dans notre corps par un grand nombre des réactions et des rendements puissants des espèces comme OH^{\cdot}
Radical pyroxyde	ROO^{\cdot}	1	Réactif et formé à partir des lipides, protéines, ADN, sucres, etc. pendant le dommage oxydatif
Hydroperoxyde organique	$ROOH$	Stable	Réagit avec les ions métaux transitoires pour donner des espèces réactives
Oxygène singulet	O_2^{\cdot}	10^{-6}	Très réactif, formé au cours de la photosensibilisation et les réactions chimiques
Ozone	O_3	1	Présente comme un polluant atmosphérique, peut réagir avec différentes molécules, ce qui donne O_2^{\cdot}
Espèces réactives de l'azote			
Oxyde nitrique	NO^{\cdot}	1	Neurotransmetteur et régulateur de la pression artérielle, peut produire des oxydants puissants pendant des états pathologiques.
Peroxynitrite	$ONOO^-$	10^{-3}	Fortement réactif, formé à partir de NO^{\cdot} et $O_2^{\cdot-}$
Acide Peroxynitros	$ONOOH$	Assez stable	Forme protonnée de $ONOO^-$
Bioxyde d'azote	NO_2	1	Formé au cours de la pollution atmosphérique.

III.1.3 Rôle physiologique de radicaux libres

Les ERO/ERN sont connus pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'ils peuvent être nocifs ou bénéfiques aux systèmes vivants. Les effets bénéfiques du ROS lorsqu'il est formé en faibles quantités, ils peuvent agir comme des seconds messagers intracellulaires, la modulation de la fonction des voies biochimiques médiées de telles réponses, telles que la croissance des cellules vasculaires lisses des muscles et les fibroblastes.

En revanche, à haute concentration, les ERO peuvent être des médiateurs importants du dommage des structures cellulaires, y compris les lipides et les membranes, les protéines et les acides nucléiques (Valko et *al.*, 2006 ; Griendling et *al.*, 2003).

III.2 Les antioxydants

III.2.1 Définition

Tous les organismes possèdent des systèmes de réparation et de défense antioxydant qui ont évolués pour les protéger contre le dommage oxydatif, ces systèmes sont insuffisants pour empêcher le dommage entièrement. Cependant, les suppléments antioxydants, ou les aliments contenant les antioxydants, peuvent être employés pour aider le corps humain à réduire le dommage oxydatif (Yang et *al.*, 2002).

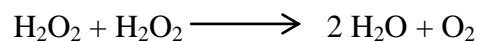
Un antioxydant est n'importe quelle substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat de manière significative en donnant un électron et/ou un atome d'hydrogène. Les antioxydants peuvent agir de différentes manières: par chélation des métaux (empêchant la formation des radicaux libres), piégeage des radicaux libres, agissant comme une chaîne de rupture (arrêtant la propagation des radicaux libres), faisant partie du réseau antioxydant redox, et/ou de régulation de l'expression du gène (Celep et *al.*, 2012 ; Surh et Packer, 2005). Selon Vijay et Vimukta (2014) et Birben et *al.* (2012), les antioxydants sont classés comme suit :

- Les antioxydants naturels ;
- Antioxydants enzymatiques ;
- Antioxydants non enzymatiques ;
- Les antioxydants synthétiques.

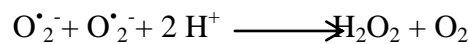
III.2.2 Antioxydants naturels

III.2.2.1 Antioxydants enzymatiques

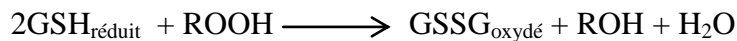
Catalase : C'est est une enzyme présente dans les cellules des plantes, des animaux et des bactéries aérobies. La catalase est située dans une organelle cellulaire appelée le peroxydosome. Elle favorise très efficacement la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire, une molécule de catalase peut convertir environ 6 millions molécules du peroxyde d'hydrogène chaque minute (Valko et *al.*, 2006) selon la formule suivante :



Superoxydedismutase: L'enzyme superoxydedismutase (SOD) est une métalloprotéine qui contient le fer, le manganèse ou le cuivre plus le zinc en tant que groupes prosthétiques, il est impliqué dans la neutralisation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), évitant ainsi la formation de dérivés plus toxiques comme la peroxynitrite ($ONOO^-$) ou le radical hydroxyle (HO^\bullet). Le mécanisme catalytique comporte l'oxydation et la réduction séquentielle des ions métaux, qui fournit la canalisation électrostatique des radicaux superoxydes dans le site actif (Öztürk et al., 1999 ; Afonso et al., 2007). L'activité SOD constitue un élément essentiel dans le système cellulaire antioxydant pour protéger la matrice extracellulaire ainsi que les cellules contre les effets délétères de l' $O_2^{\bullet-}$ et ses dérivés. Le SOD catalyse la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en dioxygène et H_2O_2 selon la formule suivante (Afonso et al., 2007):



Glutathion peroxydase (GSH-Px) et réductase (GSH-R) : Le GSH-Pxs sont une famille des enzymes tetramériques qui contiennent un acide aminé unique le sélénocystéine dans les sites actifs et utilisent les thiols de faible poids moléculaire, tels que le glutathion réduit (GSH) (Birben et al., 2012) pour réduire le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et les hydroperoxydes lipidiques en eau (ou alcool) selon les formules (Valko et al., 2006):



La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur (Piquet et Hebuterne, 2007 ; Smythies, 1998).

III.2.2.2 Antioxydants non enzymatiques

Les caroténoïdes : ce sont des pigments qui sont trouvés dans les plantes et les micro-organismes. Il y a plus de 600 caroténoïdes produits dans la nature (Valko et al., 2006).

Ils incluent les hydrocarbures, le lycopène, le β -carotène, et les xanthophylles (qui possèdent une substitution hydroxyle et/ou carbonyle sur une ou les deux extrémités de la molécule): astaxanthine, canthaxanthine, lutéine, et zéaxanthine (El-Agamey et al., 2004).

L'activité antioxydante des caroténoïdes provient principalement du fait de la capacité de la structure à double liaison conjuguée à délocaliser les électrons non appariés. Cela est principalement responsable de la capacité excellente de β -carotène pour protéger physiquement l'oxygène singulet sans dégradation, et pour la réactivité chimique de β -

carotène avec les radicaux libres, tels que ROO^\bullet , OH^\bullet et $\text{O}_2^{\bullet-}$. À des concentrations suffisamment élevées, les caroténoïdes peuvent protéger les lipides contre les dommages de peroxydation.

Généralement, trois mécanismes sont proposés pour la réaction de radicaux libres avec les caroténoïdes: l'addition radicalaire, l'abstraction d'hydrogène du caroténoïde et la réaction de transfert des électrons (Valko et al, 2006).

Vitamine C : est un composé organique hydrosoluble exigé pour la synthèse des globules rouges et du collagène, elle est obtenue principalement par l'alimentation (Figure 3) (Vélez-Alavez et al, 2014). La vitamine C a des propriétés antioxydantes et des fonctions métaboliques importantes (Bourgeois, 2003) et agit comme un élément terminal dans la protection contre le dommage du tissu provoqué par les radicaux libres, mais quand les deux vitamines C et E sont présentes, la fonction majeure de la vitamine C est la restauration de la vitamine E (Vélez-Alavez et al, 2014).

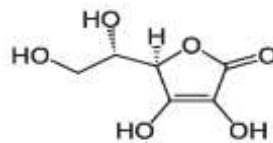


Figure 3:Structure de l'acide ascorbique (Birben et al, 2012).

Vitamine E :la vitamine E naturelle est constituée d'une série de composés appelés tocophérols et tocotriénolsse représente sous forme de (α -, β -, γ -, δ -) (Figure 4). C'est dans la stéréochimie du RRR- α -tocophérol, que la vitamine E présente l'activité biologique la plus élevée (Bourgeois, 2003).L' α -tocophérol, la forme principale de la vitamine E, est un antioxydant liposoluble, et il fonctionne comme un antioxydant de rupture de chaînes pour la peroxydation de lipide (LP) dans les membranes cellulaires et également comme un piègeur des ERO tel que l'oxygène singulet(Barros et al, 2008).La vitamine E est impliquée dans la réponse immunitaire et peut-être un de ses fonctions physiologiques principales pour protéger les membranes contre le dommage oxydatif (peroxydation de lipide) en réduisant les peroxydes lipidiques en alcool (Vélez-Alavez et al., 2014 ; Bourgeois, 2003).

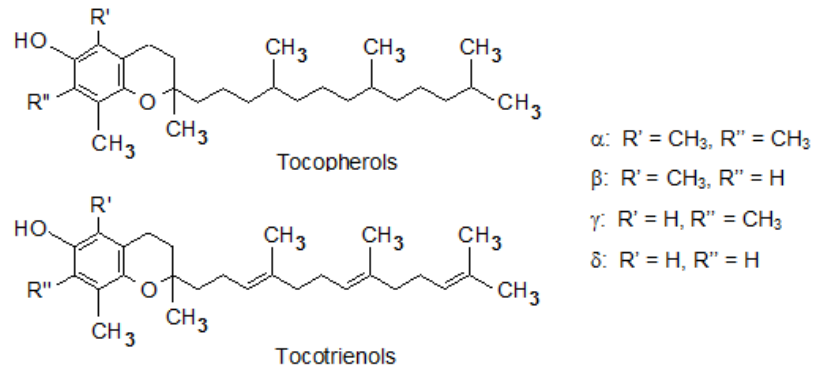


Figure 4: La structure de base des tocophérols et tocotriénols (Lampi, 2011).

Les polyphénols : Les polyphénols sont apportés par une alimentation d'origine végétale et présentent une grande diversité structurale. Les sources principales des composés phénoliques dans la nourriture humaine sont les fruits, les légumes, et les boissons (Kapur et Kapoor, 2001 ; Dimitrios, 2006). Les sources notables des polyphénols incluent les baies, le thé, le raisin/vin, l'huile d'olive, le chocolat/cocoa, le café, les noix, les arachides, le borojo, les grenades, le maïs éclaté, et d'autres fruits et légumes (Vinson et *al.*, 2001 ; 2002).

Les composés phénoliques sont des composés aromatiques hydroxylés, possédant un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupements hydroxyle (Palacios et *al.*, 2011). En nature, les composés phénoliques sont habituellement trouvés conjugués aux sucres et des acides organiques (Matthews et *al.*, 1997). Ils incluent un grand nombre de sous classes, telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, y compris les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques, les stilbènes, les lignanes, les tannins, et les polyphénols oxydés, montrant une grande diversité de structure (Palacios et *al.*, 2011).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 2) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autre molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (Macheix et *al.*, 2005).

Une propriété importante des groupements hydroxyles des phénols est leur acidité due à la labilité des protons acides, qui entraîne la formation d'anions phénoxydes stabilisés par résonance. Cet anion, a la possibilité de perdre un électron pour former un radical (Sartori-Thiel, 2003) ; l'électron, lui, pouvant être récupéré par un radical libre.

Tableau 3 : Les principales classes de composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2005).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïque	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epice, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféïque, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ -C ₄	Napthoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₃	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		
	Flavanols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légume, fleurs
	Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, Raisin
	Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

La structure aromatique du radical phénoxyde ainsi formé lui confère une certaine stabilité, donc une réactivité plus faible, en raison de la délocalisation du radical (Leopoldini et al., 2011). Il peut, ensuite, réagir avec un autre radical libre (Korkina et al., 2012). Les substitutions les plus rencontrées sur les phénols des végétaux sont principalement la méthylation et la conjugaison avec des esters et des glycosides, lesquels peuvent être acylés. Les polyphénols sont généralement glycosylés dans leur état naturel (Sartori-Thiel, 2003). Par conséquent, l'aptitude de certains polyphénols à être naturellement présents sous forme glycosidique dans l'aliment leur octroie une biodisponibilité toute relative. En effet, il a été montré que la glycosylation, la conjugaison et la polymérisation tendaient à diminuer leur absorption intestinale (Manach et al., 2004).

III.2.3 Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont des composés phénoliques synthétisés au laboratoire et ont été employés dans la stabilisation des aliments. Les plus largement utilisés sont l'hydroxyanisolebutylé (BHA), l'hydroxytoluènebutylé (BHT), l'hydroxyquinonebutylé tertiaire (TBHQ), et le gallate de propyle (PG) qui sont souvent ajoutés aux aliments pour préserver les graisses contre la détérioration oxydative (Tableau 3). Pendant les dernières décennies, il y a un intérêt croissant pour le remplacement des antioxydants synthétiques par des alternatives naturelles, à cause de leurs problèmes de sécurité et de toxicité (Cheung et *al*, 2003 ; Shalaby et *al*, 2013 ; Zhang et *al*, 2007).

IV. Stress oxydatif

IV.1 Définition

Les cellules vivantes, y compris ceux de l'homme, les animaux, et les plantes, sont continuellement exposées à des variétés de défis qui exercent un stress oxydatif. Le stress oxydatif survient dans un système biologique après une augmentation de l'exposition des oxydants, et une diminution de la capacité antioxydante du système. Il est souvent associé avec ou mène à la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO), y compris les radicaux libres, qui sont fortement impliqués dans la pathophysiologie des maladies, telles que le cancer, l'arthrite rhumatoïde, la cirrhose et l'artériosclérose aussi bien que des processus dégénératifs liés au vieillissement (Barros et *al*, 2008).

IV.2 Stress oxydatif et atteintes pathologiques

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Figure 12).

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigüe, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré (Favier, 2003).

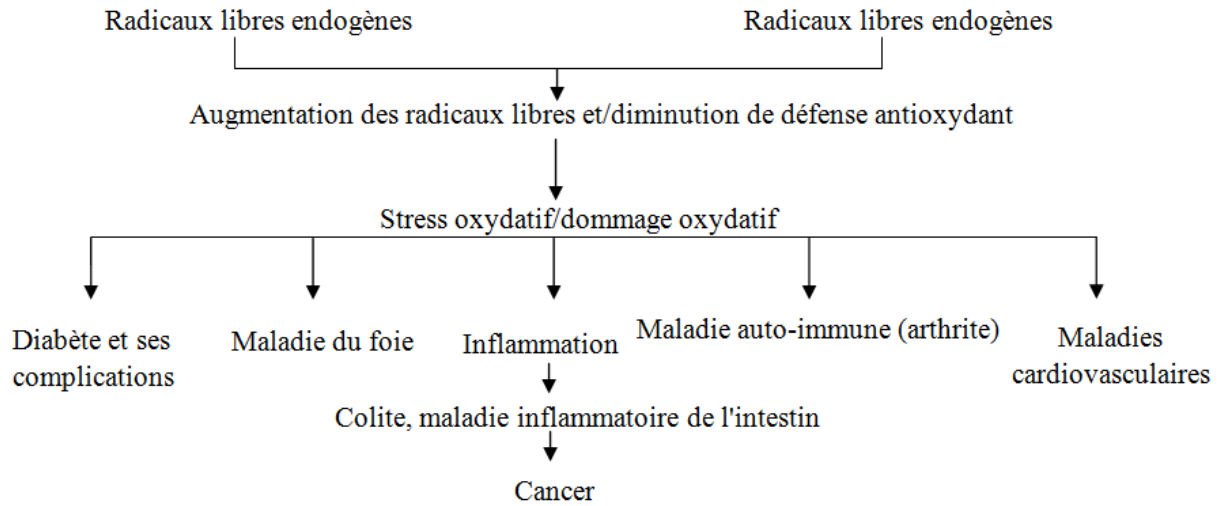


Figure 5: Organisation des radicaux libres et leur impact sur la santé humaine (Vijay et Vimukta, 2014).







Matériels et méthodes

I. Matériels

II.1 Matériel biologique

Nous avons effectué des expérimentations sur sept variétés de dattes achetées du marché local de la région de Laghouat (Tableau 4).

Tableau 4 : Les sept variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) utilisées lors de cette étude.

Nom commun	Photo
Deglet noir	
Degla baida	
timjhourt	
takerboucht	
tedala	
ghares	

II.2 Produits chimiques

Le méthanol, l'acide sulfurique (H₂SO₄), l'ABTS (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)), le TPTZ (2,4,6-tris-2,4,6-tripyridyl-2-triazine), persulfate de potassium (K₂S₂O₈), le chloroforme, le DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl), ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆, chlorure de fer (FeCl₃), Na₂HPO₄, KH₂PO₄, acide trichloracétique, acide hydrochlorique, iodate de potassium (KI), Hgcl₃, I₂, Nh₄OH, l'acide acétique glacial, l'acide gallique, le carbonate de sodium, le FolinCiocalteu, liqueur de Fehling, la ninhydrine, le nitrite de sodium, et le chlorure d'aluminium (AlCl₃) sont fournis par Fluka. Tous les autres produits chimiques utilisés dans ce travail sont de grade analytique.

II. Méthodes

II.1 Préparation de l'extrait méthanolique

50 g de chaque variété de datte dénoyautée sont introduites dans un flacon en verre contenant 100 ml de méthanol absolu pour une macération de 24 heures à température ambiante (30°C). Le macérât obtenu est ensuite filtré sur papier filtre. Les filtrats sont ensuite centrifugés à 2000 tr/min pendant 10 min puis lessurnagents sont regroupés puis évaporés à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (BüchiRotavapor R-144, Suisse) à 45°C.

L'extrait sec est dissout dans un volume approprié de méthanol (99.5%) pour avoir une concentration finale de 200 mg/mL. Les extraits ainsi obtenus sont stockés au réfrigérateur à +4 °C dans un tube en verre fermé hermétiquement pour une utilisation ultérieure.

Le rendement d'extraction est déterminé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Le rendement (\%)} = \frac{\text{masse du résidu sec après évaporation du solvant}}{\text{masse de la datte utilisée pour l'extraction}} \times 100$$

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de résidu sec par 100 grammes de la matière végétale initiale.

II.2 Tests phytochimiques

L'analyse phytochimique consiste à la mise en évidence des différentes familles de composés chimiques présents dans l'extrait méthanolique des différentes variétés de datte par la réalisation de réactions chimiques caractéristiques.

Les tests sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation ainsi que des examens en lumière ultraviolette.

II.2.1 Les composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait (50µl d'extrait + 0.95 ml méthanol) avec 2 ml de la liqueur de Fehling (1ml de solution A + 1ml de solution B), puis chauffer dans le bain marie (70°, 2 min). Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (Trease et Evans, 1987).

II.2.2 Les acides aminés

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine 5% (4 g ninhydrine ; 40 ml méthanol). 50 µl de l'extrait (50µl d'extrait + 0.95 ml méthanol) avec 1ml de ninhydrine. Chauffer dans le bain marie et observer le changement de couleur. La présence des aminoacides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette (Harbone, 1998).

II. 2.3 Les phénols

A 1ml de l'extrait (50 µl d'extrait + 0.95 ml méthanol) avec quelques gouttes de chlorure ferrique FeCl₃ (5%). En présence de tanins gallique on observe une coloration bleu noire alors qu'en présence de tanins catéchique cette coloration est une brune verdâtre (Rizk ,1982)

II.2.4 Les flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 50 µl de l'extrait (50 µl d'extrait + 0.95 ml méthanol) avec 1ml HCl (1%) et 100 µl de NaOH.

La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'apparition d'une coloration jaune (Palaniselvamet *al*, 2014).

II.2.5 Les stérols et les triterpènes

La révélation des stérols et les triterpènes ont été mis en évidence par la méthode de Libermann. On évapore 1 ml de l'extrait brut dans une boîte de Petrie (évaporation par stérilisateur), le résidu se ceste dissout par l'acide acétique nous avons ajouté 0,5 ml de l'acide sulfurique concentré. L'apparition d'un anneau rouge ou violet à l'interphase, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive.

II.2.6 Les saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau distillé à l'extrait (50 µl extrait + 950 µl méthanol), puis la solution est fortement agitée.

Ensuite le mélange est abandonné pendant 20 min. La teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse : test négatif
- Mousse moins de 1cm : test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm : test positif
- Mousse de 2cm : test très positif (Trease et Evans ,1987).

II.2.7 Les alcaloïdes

Réactif de Mayer (mercuri-tétraiodure de potassium), témoigne de la présence d’alcaloïdes qui est préparé comme suit : 0,5g de KI et g de 0,135HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d’eau distillée dans tube à visse. Ce test se fait par ajout de 100 µl de réactif de Mayer, aux 50 µl différents extraits étudiés. L’apparition d’un précipité confirme la présence des alcaloïdes (Bruneton, 1999).

II.3. Dosage des polyphénols totaux

II.3.1 Principe

Les polyphénols ont été quantifiés par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est une solution de couleur jaune constituée d’un mélange de deux acides : acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Ce réactif est réduit lors de l’oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d’oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l’absorption maximum est au voisinage de 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

La quantification des polyphénols a été faite à l’aide d’une courbe d’étalonnage linéaire, réalisée dans les mêmes conditions que l’échantillon, en utilisant l’acide gallique comme standard (Figure6).

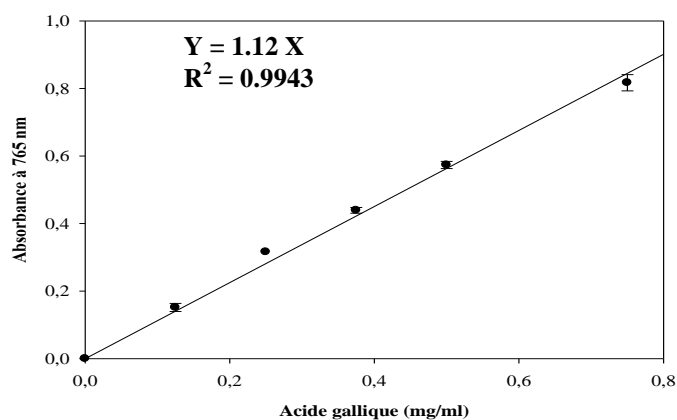


Figure 6 : Courbe d’étalonnage de l’acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

II.3.2 Méthode

Les polyphénols ont été quantifiés par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est une solution de couleur jaune constituée d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Ce réactif est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. La quantification des polyphénols a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire, réalisée dans les mêmes conditions que l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (Figure 6).

II.4. Dosage des caroténoïdes

Les extraits méthanoliques des sept espèces des dattes (10 mg/mL) ont été analysés à l'aide de spectrophotomètre UV-Vis à différentes longueurs d'ondes 470, à 653 et à 666 nm. Les concentrations des caroténoïdes et des chlorophylles α et b étaient déterminées par les équations rapportées par Lichtenthaler *et al.*, (1985) comme suit :

$$\text{Chlorophylle } \alpha \text{ (mg/ml)} = 15.65 \text{ Abs}_{666} - 7.340 \text{ Abs}_{653}$$

$$\text{Chlorophylle } b \text{ (mg/ml)} = 27.05 \text{ Abs}_{653} - 11.21 \text{ Abs}_{666}$$

$$\text{Chlorophylle totaux (mg/ml)} = 1000 \text{ Abs}_{470} - 2.860 C_A - \frac{129.2 \times C_B}{245}$$

II.5. Dosage flavonoïdes

II.5.1 Principe de la méthode

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

II.5.2 Protocole expérimentale

La teneur totale en flavonoïde des extraits est mesurée selon la méthode spectrophotométrique décrite par (Kim *et al.*, 2003). 25 μ l de l'extrait (100 μ L l'extrait + 400 μ L méthanol) sont ajoutés à 300 μ l de nitrite et 300 μ l de chlorure d'aluminium à 10%. Les tubes à essai sont incubés à la température ambiante pendant 5 min, puis

0,1 ml d'hydroxyde de sodium (2%) est ajouté. L'absorbance du mélange est lue à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis. La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y= ax+b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons (figure 7). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de la plante.

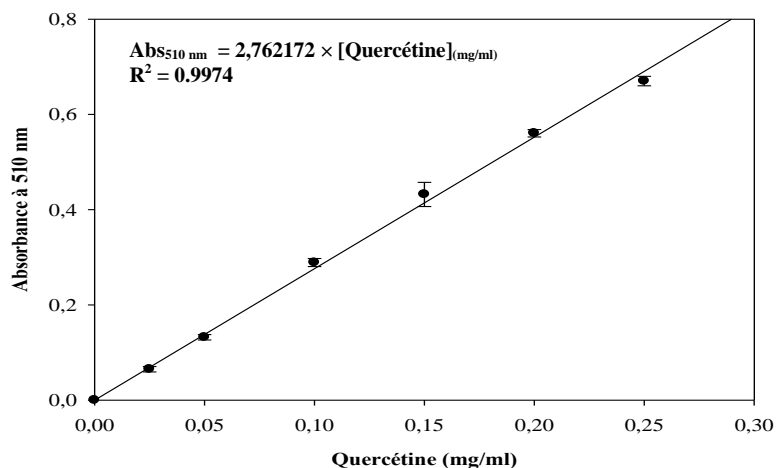


Figure 7. Courbe d'étalonnage de quercétine (mg/ml) pour le dosage des flavonoïdes.

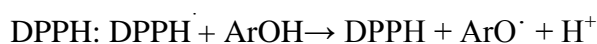
II.6.Evaluation des activités antioxydante et antiradicalaire

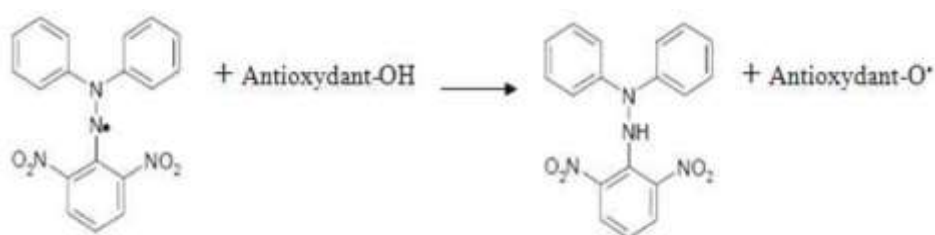
Différentes méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante et antiradicalaire des extraits méthanoliques des sept variétés de dattes.

II.6.1.Test DPPH

II.6.1.1.Principe du test

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y'a formation de la forme réduite (Figure8). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune (Molyneux, 2004)caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm (Brand-Williams, 1995). En représentant le radical DPPH et le donateur d'hydrogèneArOH. La réaction primaire est :





DPPH (violet)

DPPH (jaune)

Figure 8: Structure chimique du radical DPPH et de sa forme réduite.

II.6.1.2.Méthode

Dans un tube à essai, une quantité de 2.9 ml de DPPH[•] à 100 µM (40 mg/100mL) préparé dans du méthanol pure a été ajoutée à 100 µl d'extrait méthanolique des dattes à des concentrations croissantes. Après incubation pendant 20 min à température ambiante et à l'abri de la lumière l'absorbance des échantillons est lue à l'aide d'un spectrophotomètre calibré à 517nm (Williams et al., 1995).

Le pourcentage d'inhibition est calculé à partir de la relation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de DPPH} = \left(\frac{Abs_c - Abs_e}{Abs_c} \right) \times 100$$

Avec

Abs_c : Absorbance du contrôle

Abs_e : Absorbance de l'échantillon testé

Pour chaque extrait des dattes et nous avons déterminé la valeur IC_{50} Elle représente la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH (Samarth et al, 2008).

Un autre paramètre exprime la puissance anti radicalaire a été calculé à partir du premier paramètre noté "ARP" puissance anti radicalaire noté "ARP" tel que

$$ARP = \frac{1}{IC_{50}}$$

ARP : Puissance anti radicalaire.

Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne de deux mesures obtenues.

II.6.2. Méthode de la réduction de fer (FRAP)

II.6.2.1 Le principe

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques des datte étudiées a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible (Benzie, 1996). La présence des réductants dans les extraits de datte provoque la réduction du complexe ferrique-tripyridyltriazine (Fe(III)-TPTZ) en complexe ferreux-tripyridyltriazine (Fe(II)-TPTZ), les absorbances ont été mesurées à $\lambda = 593$ nm.



II.6.2.2 Le protocole expérimental

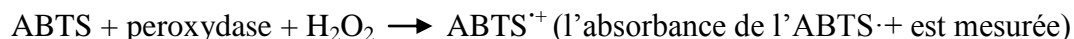
Le test FRAP a été réalisé selon la méthode de Benzie et Strain (1996) modifiée. Les solutions stockes comprennent le tampon d'acétate de 300 mM (3.1g acétate de sodium, 3H₂O et 16 ml d'une solution acide acétique à 300 mM) à pH 3.6, TPTZ à 10 mM préparé dans une solution d'acide chlorhydrique à 40 mM, et 20 mM de FeCl₃.6H₂O. La solution fraîche de travail a été préparée en mélangeant 100 ml de solution tampon d'acétate avec 10 ml de mélange TPTZ, et 10ml de FeCl₃.6H₂O en un rapport de volume (100:10:10). Cette solution finale est incubée à 37°C avant utilisation. Dans des tubes à hémolyse, 70 μ l d'extrait méthanolique de chaque variété de datte est mélangés avec 2.1 mL de la solution FRAP. Après agitation au vortex, les tubes sont incubés à l'abri de la lumière pendant 30 min.

Lire la couleur du produit (complexe ferrique tripyridyltriazine) à 593 nm. Les résultats ont été exprimés en μ moles équivalent des standards (BHA, Vit C et trolox) par g de résidu sec.

II.6.3 Test ABTS

II.6.3.1 Principe

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé ABTS^{•+} est généré en présence de la peroxydase (Figure 9).



En présence d'un antioxydant (extraits phénoliques), le passage du radical ABTS^{•+} à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de la coloration vert-bleu intense qui peut être suivie par mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 734 nm (Chen et Chang *et al.*, 2004). Ce test est simple opérationnel, reproductible, et diverse, et utiliser dans différents milieu.

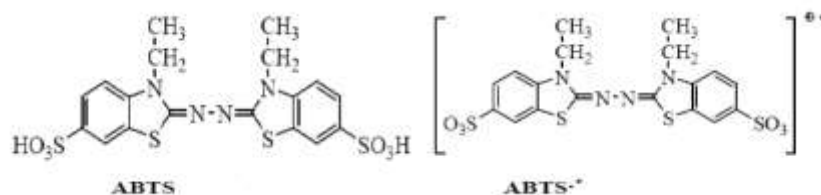


Figure 9: Structure des formes réduite et du radical cation de l'ABTS (Prouillac,2006).

II.6.3.2 Le protocole expérimental

Le test ABTS a été effectué selon la méthode décrite par Re et *al.* (1999). Les solutions stockes contenant 7 mM ABTS et 2.4 mM de persulfate de potassium (Figure 10). La solution de travail est ensuite préparée en mélangeant les deux solutions stockes en quantités équivalentes et les laissées réagir pendant 12 heures à température ambiante à l'abri de la lumière. La solution ainsi obtenue est diluée en mélangeant 1 mL de l'ABTS^{•+} avec 60 mL de méthanol pour avoir une absorbance de 0.8 mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 734 nm. Dans des tubes à essai on mélange 0.9 mL de solution ABTS avec 100 µl de différentes concentrations d'extrait méthanolique pour chaque variété de datte. Après 20 min d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance des échantillons est lue à 734 nm.

Les pourcentages d'inhibition du radical d'ABTS ont été calculés par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de l'ABTS (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_E}{A_0} \right) \times 100$$

Avec

A_0 : Absorbance de la réaction de commande (en absence d'extrait).

A_E : Absorbance en présence de l'extrait.

La concentration en extrait provoquant l'inhibition de 50 % (IC_{50}) a été calculée à partir du graphe de l'effet de balayage d'ABTS contre la concentration en extrait, comparée avec l'acide ascorbique comme standard.



Figure 10: Solution radicalaire de ABTS^{•+} obtenue après ajout des ions persulfates.

Résultats et discussion

I. Rendement d'extraction

Le méthanol est un solvant très efficace pour l'extraction des composés phénoliques relativement polaires et des polyphénols des plantes (Zeng *et al.*, 2012).

D'après le Tableau (5) le rendement d'extraction des composés phénolique des dattes est plus ou moins élevé et varie selon la variété. Un rendement d'extraction le plus élevé est obtenu avec la datte Timjouhart (58.20%) tandis que la date Degla baida a le rendement d'extraction le plus faible (17.60%).

Nos résultats sont relativement similaires par rapport à ceux trouvés par Selkh et Behissa (2013). Ces auteurs rapportent que le rendement d'extraction des composés phénoliques des dattes d'Algérie varie entre 27.2 et 72.2% avec le méthanol comme solvant d'extraction.

Tableau 5 : Rendement d'extraction (%) de quelques vérités de dattes (*Phoenix dactylifera* L.).

Variété de datte	Rendement d'extraction (%)
Timjouhart	58.20
Ghars	35.40
Tedela	34.00
Tekerbouchet	33.80
Deglet Nour	30.60
Mekouiya	26.00
DeglaBaida	17.60

II. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles des composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Les résultats des tests phytochimiques sont regroupés dans (le tableau 6). Dans les sept variétés des dattes, la recherche des composés réducteurs, des acides aminés, des phénols, des flavonoïdes, des stérols et les triterpènes, des saponosides et des alcaloïdes ont montrée des différentes résultats positifs et négatif.

On remarque l'absence totale des alcaloïdes, des acides aminés et des saponosides dans les sept variétés de datte. Les extraits méthanoliques de Degla Baida et Mekouiya sont les plus riches en phénols et e flavonoides.

De plus, l'analyse phytochimique montre la présence des composés réducteurs, des stérols et terpènes dans toutes les variétés de datte.

Tableau 6 : Résultats des tests phytochimiques sur sept variétés des dattes.

Variété de datte	Composés réducteurs	Acides aminés	Phénols	Flavonoïdes	Stéroles et terpènes	Saponosides	Alcaloïdes
Ghars	++	-	+	+	+	-	-
Takerboucht	+++	-	+	+	+++	-	-
Tadala	++	-	+	+	++	-	-
Deglet Nour	++	-	+	++	+++	-	-
Degla beida	++	-	+++	+++	+++	-	-
Mekouya	++	-	+++	+++	+++	-	-
Tamjhourt	+++	-	+	+	+++	-	-

- : Test négatif

++ : Test positif

+ : Test faiblement positif

+++ : Test fortement positif

III. Teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en caroténoïdes

Il a été reporté que l'activité antioxydante des extraits de végétaux est parfaitement corrélée avec leur teneur en composés phénoliques, en flavonoïdes et en caroténoïdes (Velioglu et *al.*, 1998).

Les résultats du dosage de ces constituants phytochimiques sont regroupés dans le Tableau (7). D'après ces résultats, on constate que DeglaBaida, Deglet Nour et Mekouiya sont les variétés de datte les plus riches en polyphénols et en flavonoïdes par rapport autres variétés de datte.

Tableau 7 : Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en caroténoïdes des extraits méthanoliques de sept variétés de datte d'Algérie.

Variété de datte	Polyphénols totaux (mg EAG/g résidu sec)	Flavonoïdes totaux (mg EQ/g résidu sec)	Caroténoïdes totaux (mg/g résidu sec)
Ghars	18.03±4.50	0.73±0.00	350.42
Tekerbouchet	28.10±0.35	1.14±0.00	1011.17
Mekouiya	35.10±1.46	4.16±0.76	915.83
Tedela	13.48±0.17	0.17±0.03	401.02
Timjoughert	23.53±0.15	1.62±0.45	909.88
Deglet Nour	29.44±1.13	3.28±0.47	853.96
DeglaBaida	22.33±1.18	6.36±0.73	239.78

Nos résultats montrent que la teneur des dattes d'Algérie en composés phénoliques est semblable par rapport à celle des dattes d'Iran qui ont des teneur comprises entre 0.0289 et 1.41 mg EAG/ g (Biglari et *al.*, 2008).

De plus, Benmeddour et *al.* (2012) ont trouvé que la teneur des phénols varie de 2,25 à 9,54 mg EAG/g dans des variétés de dattes d'Algérie. Ces teneurs étaient beaucoup plus ou moins comparables par rapport à nos résultats.

Cette grande différence de la teneur en composé phénolique est probablement due aux conditions de stockage des dattes, de leur origine, et au taux différent de matière fraîche des échantillons. La méthode et les conditions d'extraction des composés phénoliques peuvent influencer également les résultats.

D'après Harris (1977), la variation de la teneur en composés phénolique entre les variétés de dattes résulte de l'effet d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont la génétique, la lumière, les précipitations, la topographie, la fertilisation, le type de sols, la saison et la maturité.

Macheix et *al.* (1990) signalent que la concentration des polyphénols est très variable d'une espèce à une autre et d'une variété à autre et diminue régulièrement durant la maturation et le stockage par différentes voies du brunissement des dattes (Amiot et *al.*, 1995 ; Nicolas et *al.*, 1994).

Biglari et *al.* (2008) ont trouvé que la teneur en flavonoïdes des variétés de dattes d'Iran sont comprises entre 0.0162 et 0.8179 mg équivalents de catéchine /g^{**}. Ces valeurs sont proches par rapport à celles déterminées dans les dattes d'Algérie. Nos résultats semblent être en accord avec ceux trouvés par Benmeddour et *al.* (2012) (0.152 à 2,99 mg EQ/g).

De plus les variétés de datte, Timjoughert, Mekouiya, Deglet Nour et Tekerbouchet possèdent la teneur la plus élevée en caroténoïdes (853.9 à 1011.1 mg/g résidu sec) tandis que DeglaBaida a la teneur la plus faible (239.7 mg/g résidu sec) (Tableau 7).

D'après Abbès(2013) l'augmentation du contenu en caroténoïdes peut être due à l'hydrolyse de la pectine et de la cellulose avec la libération des caroténoïdes dans les chloroplastes et dans les fluides cellulaires.

Ben-Amotz et *al.* (1998) suggèrent que la différence en teneur en caroténoïde entre les variétés de datte peut être expliquée par la variété, la maturation et les conditions du stockage des dattes.

IV.Détermination du pouvoir antioxydant et antiradicalaire

IV.1 Test du piégeage du radical DPPH

Le test de DPPH a été réalisé afin d'évaluer les propriétés antioxydantes et antiradicalaires des extraits méthanoliques des dattes par la mesure de la diminution de l'absorbance du radical DPPH après exposition aux piègeurs des radicaux.

L'étude de la capacité de piégeage de DPPH^{*} est une méthode largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante dans un temps court.

Le DPPH^{*} est un radical libre stable capable d'accepter des électrons ou d'atome d'hydrogène radicalaire pour se transformer en molécule stable (Yim et al., 2010, Yermilov et al., 1995). La couleur du DPPH change du violet vers le jaune lorsqu'il est réduit par ces processus soit d'un donneur l'hydrogène ou d'électrons. Les substances qui provoquent cette réaction sont considérées comme des antioxydants et par conséquent des piègeurs de radicaux libres.

Nous avons constaté que l'ajout d'un extrait méthanolique de datte à une solution de DPPH^{*} provoque une diminution significative de son absorbance.

Ce résultat confirme que cet extrait contient des donneurs d'hydrogène ou d'électrons capables de piéger le radical DPPH. Le piégeage ce radical libre dépend aussi de la concentration de l'extrait méthanolique de datte.

La Figures (11) montrent que le taux d'inhibition du DPPH^{*} augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait méthanolique de datte. L'extrait méthanolique de Much deglet inhibe le radical DPPH de façon plus importante par rapport aux autres extraite ceci est démontré par l'allure exponentielle du graphe avec l'apparition d'une phase stationnaire qui indique une réduction totale du radical DPPH (Kanoun, 2011).

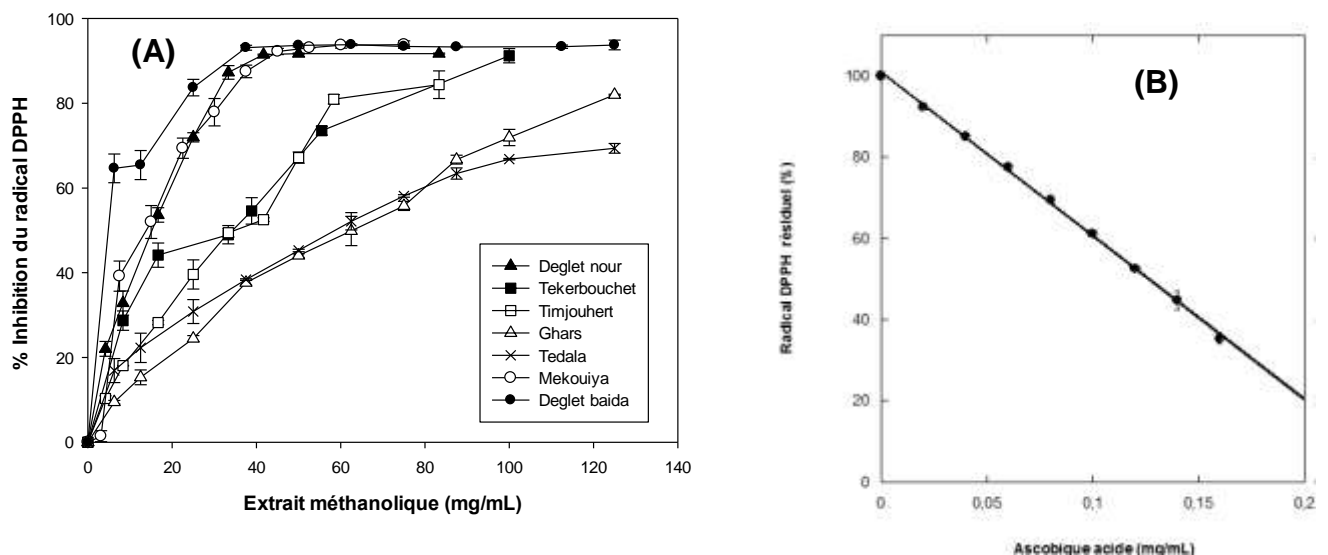


Figure 11: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH^{*} en fonction des concentrations des extraits méthanoliques des sept variétés de dattes étudiées (A) et de l'acide ascorbique (B).

Dans le but d'une comparaison entre le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques de différentes variétés de dattes d'Algérie les valeurs EC_{50} ont été calculées où EC_{50} est la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire la concentration initiale de DPPH à 50% dans les conditions expérimentales. L'activité de piégeage du radical DPPH est plus élevée pour une valeur EC_{50} plus faible (Nandhakumar, 2012).

L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant standard et sa valeur d' EC_{50} ainsi calculée est 0.12 mg/ml. Il possède donc une activité antiradicalaire très puissante par rapport aux extraits méthanoliques des sept variétés de datte étudiées (Bougandoura, 2011).

D'après les valeurs d' EC_{50} (Tableau 8), on remarque clairement que les extraits méthanoliques de datte Mekouiya, DeglaBaida et Deglet Nour qui donne une activité de piégeage de DPPH la plus élevée ($EC_{50} = 4.7-15.5$ mg/ml).

Tableau 8 : Les valeurs d' EC_{50} des activités antioxydantes de l'extrait méthanolique des sept variétés de datte d'Algérie.

Variété de datte	DPPH (EC_{50} ; mg/ml) ^a	ABTS (EC_{50} ; mg/mL)	TPTZ (EC_{50} ; mg/mL)
Ghars	63.50	3.8	12.7
Tekerbouchet	33.05	20.2	15.1
Mekouiya	13.65	1.8	4.5
Tedela	58.67	5.2	29.6
Timjoughert	36.30	2.1	11.6
Deglet Nour	15.53	2.1	2.6
DeglaBaida	4.77	1.8	8.7
Antioxydant standard			
Acide ascorbique	0.12	0.0016	0.08

L'extrait méthanolique de datte Tedala possède l'activité de piégeage de DPPH la plus faible ($EC_{50}=58.6$ mg/ml). Ces résultats corréleront parfaitement avec les teneurs en caroténoïdes et en composés phénoliques des différents extraits méthanoliques des variétés de dattes étudiées (Bulda et al., 2008).

Les valeurs d' EC_{50} des extraits méthanoliques de dattes d'Algérie sont dans la gamme des valeurs trouvées par Behissa et Selkh (2013).

La capacité de piégeage du radical DPPH par l'extrait méthanolique des dattes peut être expliquée par la présence des composés plus donneur d'hydrogène ou aux composés phénoliques non polaires comme les caroténoïdes et les tocophérols (Barros et al., 2008 ; Mui et al., 1998 ; Bondet et al., 1997).

IV.2 Test de piégeage du radical ABTS

Le radical cation $ABTS^{*+}$ est une méthode spectrophotométrique courante pour la détermination du pouvoir antioxydant des composés. Ce chromogène (bleu vert) est facile à utiliser, possède une sensibilité élevée et permet l'analyse rapide de l'activité antioxydante d'un grand nombre d'échantillons. La formation du radical cation ABTS constitue l'une des méthodes spectrophotométrique de base pour la mesure de l'activité antioxydante des substances pures en solution, des mélanges aqueux et les boissons (Miller, 1996).

La forme la plus appropriée de l'essai est la technique de décoloration, dans laquelle le radical est généré directement sous une forme stable avant la réaction avec les antioxydants (Mandade et al., 2011).

La technique améliorée pour la génération de l' $ABTS^{*+}$ décrite ici implique la production directe du chromophore $ABTS^{*+}$ bleu/vert par la réaction entre le radical cation $ABTS^+$ et le persulfate potassium (Mandade et al., 2011).

La Figure (12) montre que la capacité de piégeage de l' $ABTS^{*+}$ par les extraits méthanoliques des variétés de dattes Deglet Nour, Timjoughert, DeglaBaida et Mekouiya est significativement élevée par rapport aux autres variétés de dattes. Par conséquent, ces variétés de dattes pourraient contenir des composés phénoliques de poids élevé et peuvent être considérées donc comme une excellente source de piégeur du radical cationique (Yim et al., 2010).

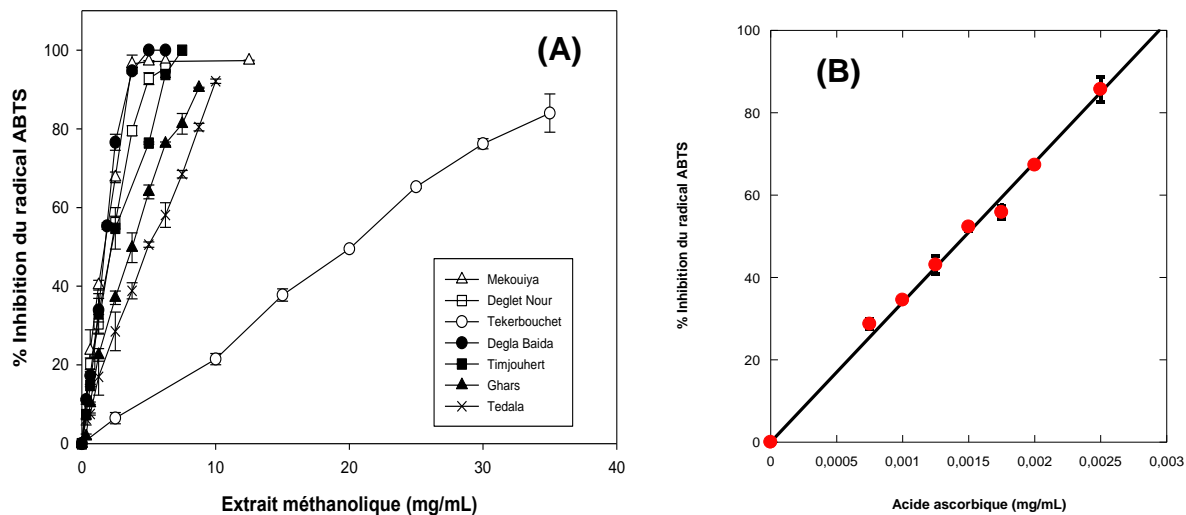


Figure 12: Courbes représentant la variation du pourcentage de réduction d'ABTS en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de sept variétés de dattes (A) et de la concentration d'acide ascorbique (B).

IV.3 Evaluation du pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La méthode de FRAP permet de mesurer l'habilité d'une molécule antioxydante à réduire l'ion ferrique à pH faible, formant un complexe bleu de Tripyridl triazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) qui est réduit en ion ferreux (Fe^{2+}) (Singleton et al., 1999).

D'après les résultats indiqués sur la Figure (13), on remarque que les extraits méthanoliques des deux variétés de datte Deglet Nour et Mekouiya ont un pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport aux autres variétés de datte donc il sont capables de réduire l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} . Le pouvoir antioxydant de ces deux variétés de datte est due à leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes qui possèdent des propriétés antioxydantes (Goh et al., 2010).

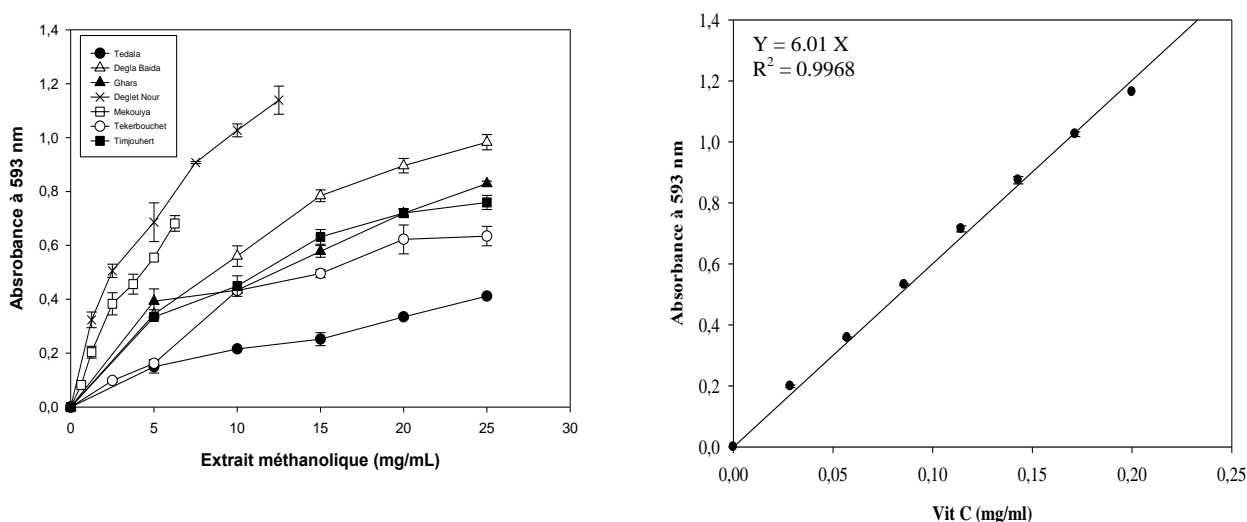


Figure 13: Courbes représentant la variation des absorbance à 593 nm en fonction des concentrations des extraits méthanoliques de sept variétés de datte (A) et de l'acide ascorbique (B) obtenues par le test de FRAP.

D'après les résultats regroupés dans le Tableau (8), l'acide ascorbique possède un pouvoir antioxydant plus élevé par rapport aux extraits méthanoliques des variétés de datte étudiées.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Ce travail consiste portera sur l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et antiradicalaire des extraits de sept variétés de dattes d'Algérie (Mekouya, Timjouhert, Takerboucht, Deglabaida, El-Ghars, Deglet Nour et Tedala) en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction.

Le dosage des principaux constituants phytochimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les caroténoïdes montrent que Deglet Nour, Mekouiya et Deglet Baida sont les variétés de datte les plus riches en polyphénols et flavonoïdes. De plus, Timjouhert, Mekouiya, Deglet Nour et Tekerbouchet possèdent la teneur la plus élevée en caroténoïdes.

Les résultats des tests de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS ont montré que les extraits méthanoliques des trois variétés de datte Mekouiya, DeglaBaida et Deglet Nour ont le pouvoir anti radicalaire et antioxydant les plus élevés.

Deglet Nour et Mekouiya sont capables de réduire de réduire fortement l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} par rapport aux autres variétés. Les activités antioxydante et antiradicalaire des différentes variétés de datte dépendent de manière significative de leur teneur en composés phénoliques et caroténoïdes.

On peut dire que les dattes d'Algérie peuvent être considérées comme étant une excellente source naturelle d'antioxydants très utiles dans le domaine agroalimentaire comme conservateurs.

Afin de compléter notre étude, il serait envisageable d'identifier les molécules responsables de l'activité antioxydante et antiradicalaire des dattes par l'analyse chromatographique en phase liquide à haute performance.

Il serait également intéressant de réaliser d'autres activités biologiques des extraits méthanoliques des différentes variétés de datte comme l'activité antimicrobienne.

Références bibliographiques

Afonso, V; Champy, R; Mitrovic, D ; Collin, P; Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde sdismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*. 74 : 636–643.

Al-Shahib W and Marshall RJ (2003), The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future , *Int J Food Sci Nutr* , 54 , 247 – 59 .

Al-Shahib, W., Marshall, R.J., 2002. Dietary fibre content of dates from 13 varieties Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbach, N., Atmani, D., Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*, 2009, Vol. 112; pp 303- 309.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J., et Pinkas M. 1996, Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations, *Arznei. Forschung*, 46: 1086-1089.

Barros, L; Falcão, S; Baptista, P; Freire,C; Vilas-Boas, M; Ferreira, IC.F.R. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus sp.* mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chemistry*. 111 : 61–66.

Belarbi A. (2001). Stabilisation par séchage et qualité de la datte Deglet Nour. Thèse de Doctorat de l'ENSIA, Massy.

Benchabane, A. (1996). Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte".In Options méditerranéennes, série A, N° 28. Séminaires méditerranéens. Ed. IAM, Zaragoza,Spain. pp 205-210.

Benzie, I.F.F., Strain J.J.(1997). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP. *Anal biochem*, 239:70-76.

Biglari et al. (2008) dattes Biglari, F., Alkarkhi, A.F.M., & Easa, A.M. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry*, 107,

Birben, E; Sahiner, UM; Sackesen,C ; Erzurum,S ; Kalayci,O. (2012). Oxidative Stress and AntioxidantDefense. *WAO Journal*. 5: 9–19.

Bourgeois, C F. (2003). Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Lavoisier. 3^{ème} édition. p: 37-81-111.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 28, 25–30.

- Bruneton J. 1993, Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, Lavoisier Techniques et Documentation, Paris.
- Buelguedj, A., and Nacib, N. (2001). Production d'acide lactique par *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu à base de jus de dattes. *rev.enreg.ren.production et valorisation biomasse*. p41-46.
- Celep, E; Aydın, A; Yesilada, E. (2012). A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and Chemical Toxicology*. 50 : 3329–3335.
- Chaira, N., Smaali, M. I., Martinez-Tomé, M., Mrabet, A., Murcia, M. A., & Ferchichi, A. (2009). Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water–methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 316–329.
- Chen, I., Chang, H., Yang, H., Chen, G. (2004). Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs: a fast approach with ABTS/H₂O₂/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*, 29-33.
- Cheung, L.M; Cheung, Peter C.K; Vincent E.C. Ooi. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*. 81 : 249–255.
- date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman, *J. Agric. Food Chem.*
- DJERBI M. (1994). Précis de phoeniciculture. Ed. FAO, Rome: 192p.
- Espiard, E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc. Lavoisier, Paris. pp 147-155.
- Estanove, P. (1990). Note technique : Valorisation de la date. In : Options
- Feldman, J. F. and Thayer, J. P. (1974), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 61, 917.
- Flurkey, W. H. and Jen, J. J. (1978). Peroxidase and polyphenol oxidase activity in developing peach. *J. Food Sci.* 43, 1826-1828, 1831 .
- Ghedira K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005, Vol 3(4) ; pp 162-169.
- Gilles, P. (2000). Cultiver le palmier dattier. Ed. CIRAS. p 110.
- Harbone J. 1998, *Phytochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis*. Ed Chapman et Hall, 3^{ème} Edition.
- Hussein, A.S., Alhadrami, G.A., & Khalil, Y.H. (1998). The use of dates and date pits in broiler starter and finisher diets. *Bioresource Technology*, 66, 219–223

- KCHAOU W., ABBÈS F., ATTIA H., BESBES S., 2013. In Vitro Antioxidant Activities of Three Selected Dates from Tunisia (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Chemistry*, 8 p.
- Kim D., Chun O., Kim Y., Moon H., et Lee C. 2003, Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric, Food Chem.*, 51(22), 6509-6515.
- Lampi, A-M. (2011). Analysis of tocopherols and tocotrienols and by HPLC. *Selected Topics in the Analysis of Lipids*.
- M. Al-Farsi, C. Alasalvar, A. Morris, M. Baron, F. Shahidi, Comparison of antioxidant
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Billot, J. (1990). Fruit phenolics (pp.
- 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.
- méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. Ed. CIHEAM. pp 301-318.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity; Songklanakarin J. Sci. Technol, 26: 211-219. of the flavonoids from *Anaphalis sinica* Hance form.
- Mui, D; Feibelman, T Bennett, W. (1998). A preliminary study of the carotenoids of some North American species of *Cantharellus*. *Int J Plant Sci.* 159 :244-248.
- Munier P, (1973). Le palmier dattier, Maison neuve et Larose, Paris. 25-28-31-32-40-48-141-142-221-367p. mushroom tyrosinase by sodium dodecyl sulfate." *Colloid Surface B* 32(2):
- Nicolas J.J., Richrd-Forget F.C., Goupy P.M., Amiot M.J., Aubert S.y., (1994). Enzymatic browning reaction in apple products. *Crit. Rev. food Sci. Nutr.* 34, 109-157.
- of date palm *Phoenix dactylifera* L. *Int. J. Food Sci. Technol.* 37, 719–721.
- Öztürk, R; Bozkaya, L. A; Atav, E; Sağlam, N; Tarhan, L. (1999). Purification and characterization of superoxide dismutase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Enzyme and Microbial Technology.* 25 : 392–399.
- Palacios, I ; Lozano, M ; Moro, C ; D'Arrigo, M ; Rostagno, M.A ; Martínez , J.A; García-Lafuente, A ; Guillamón, E ; Villares, A. (2011). Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chemistry.* 128: 674–678.

- Palaniselvam K., Mashitah M., Yusoff, Narasimha R., et Natanamurugaraj G., 2014,. Evaluation of in-vitro antioxidant and antibacterial properties of Commelina nudiflora L. extracts prepared by different polar solvents. *Saudi Journal of Biological Sciences* : 09.016
- Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., Huang, F., Antioxydantactivity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel, *Food Chemistry*, 2008, Vol.106; pp 1264-1270
- Piquet, M. A; Hebuterne, X. (2007). Nutrition en pathologie digestive. Ed : DOIN. p: 16-20.
- Prouillac, C. (2006). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro, Thèse ; *Univ Paul Sabatier de TOULOUSE III*, 291.
- quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment, *Food Chem.* 79 (2) (2002)
- Re, R., pellegrini, N., protegrente, A., Pannala, A., Yang,M., Rice-Evans (1999): Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical bio Med*, 26:1231-1237.
- Ribéreau-Gayon J, Peynaud m, Ribéreau-Gayon P et Sudraud P. 1972, Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, , p. 671.
- S.N. Al-Hooti, J.S. Sidhu, J.M. Al-Saqer, A. Al-Othman, Chemical composition and Saafi et al., 2009, the EC50 values obtained using the pilot thermal reactor with a mix of the studied secondary date varieties was lower in the unfractionated sample, but similar or higher in some fractions.
- Sawaya W N, Khatchadourian H, Khalil J., (1982). Growth and chemical characterization of three Saudi date cultivars at various stages of development. *Can.inst. Food Sci. Technol.*, 16, 87-91 p. 137-143.
- Sawaya WM and Mashadi AS (1983), Sugars, tannins, and vitamin contents of twenty-fi ve date cultivars grown in Saudi Arabia , *Proc Date Palm Symp King Faisal Univ* , 468 – 479
- Shalaby, Emad. A; Shanab, Sanaa M. M. (2013).Antioxydantcompounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy andPharmacology.* 7(10) : 528-539.
- Trease E .,et Evans W. 1987, *Pharmacognosy Billiaire*. Editions Tindall London 13, 61-62.

- Valko, M ; Rhodes, C.J ; Moncol, J ; Izakovic, M ; Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1–40.
- Vayalil, P. K. (2002). Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (*Phoenix dactylifera* L. *Arecaceae*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 610–617.
- Vélez-Alavez, M; Méndez-Rodríguez, LC; De Anda Montañez, JA; Mejía, C.H; Galván-Magaña, F; Zenteno-Savín, T. (2014). Vitamins C and E concentrations in muscle of elasmobranch and teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 170: 26–30.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 46:4113–4117.
- Vinson JA, Zubik L, Bose P, Samman N, Proch J. Dried fruits: excellent in vitro and in vivo antioxidants. *J Am Coll Nutr* 2005; 24: 44-50.
- Waterhouse, AL. (2001) Determination of Total Phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* I 1.1.1-II.1.8 Wiley, New York.
- Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft und –Technologie*, 28, 25–30.
- Wu, X., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S., & Prior, R. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4026–4037.
- Yang, C., Fujita, S., Ashraf-Uzzaman, M., Nakamura, N., And Hayashi, N. (2000). Purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) pulp. *J. Agric. Food Chem.* 48,2732-2735.
- Yang, C., Fujita, S., Ashraf-Uzzaman, M., Nakamura, N., And Hayashi, N. (2000). Purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) pulp. *J. Agric. Food Chem.* 48,2732-2735.
- Zhang, W-W ; Duan, X-J ; Huang, H-L ; Zhang, Y ; Wang, B-G. (2007). Evaluation of 28 marine algae

Résumé : L'objectif principal de ce travail est l'étude phytochimique et la détermination du pouvoir antioxydant et antiradicalaire des extraits méthanoliques de sept variétés de dattes d'Algérie (Mekouya, Timjouhert, Takerboucht, Deglabaida, El-Ghars, Deglet Nour et Tedala). Des rendements d'extraction élevés ont été obtenus avec le méthanol comme solvant. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes montre que les variétés de dattes Degla Baida, Deglet Nour et Mekouiya sont les plus riches (4.16-35.10 mg EAG/g résidu sec). Timjouhert, Mekouiya, Deglet Nour et Takerbouchet possèdent la teneur la plus élevée en caroténoïdes (1011.17-853.96 mg/g résidu sec).

Le test de piégeage du radical DPPH et ABTS Les extraits méthanoliques des trois variétés de datte Mekouiya, Degla Baida et Deglet Nour ont le pouvoir anti radicalaire et antioxydant les plus élevés (1.8-15.53 mg/mL). Deglet Nour et Mekouiya sont capable de réduire fortement l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} par rapport aux autres variétés (2.6-4.5 mg/mL). Les activités antioxydante et antiradicalaire des différentes variétés de datte sont fortement liées à leur teneur en composés phénoliques et caroténoïdes.

Les dattes d'Algérie peuvent être considérées comme étant une excellente source naturelle d'antioxydants très utiles dans le domaine agroalimentaire comme conservateurs.

Mots clés : Datte d'Algérie, extrait méthanolique, pouvoir antioxydant, activité antiradicalaire.

Abstract: This present work aims to study the phytochemistry and the antioxidants and antiradical activity of methanolic extracts of seven varieties of Algerian dates (Mekouya, Timjouhert, Takerboucht, Deglabaida, El-Ghars, Deglet Nour et Tedala). A high extraction yields were obtained with methanol as solvent. The dosage of polyphenols and flavonoids show that Degla Baida, Deglet Nour and Mekouiyadate contains the high content (4.16-35.10 mg EAG/g résidu sec). Timjouhert, Mekouiya, Deglet Nour and Takerbouchet have the high content with caroténoïdes (1011.17-853.96 mg/g résidu sec).

The test of scavenging of DPPH and ABTS radicals show that Mekouiya, Degla Baida et Deglet Nour has the high antiradical and antioxidant power. The results of this methods show that Algerian dates have different antioxidant capacities.

Deglet Nour and Mekouiya are able to reduce efficiency Fe^{3+} to Fe^{2+} when compared by the others date varieties. The antioxidant and antiradical activities are linked to the content of polyphenolics compounds and carotenoids.

The Algerian dates can be used as an excellent source of natural antioxidants very useful in the food industry as conservators.

Keywords: Algerian dates, methanolic extract, Antioxidant power, antiradical activity.

الهدف من هذا العمل هو الدراسة الفيتوكيميائية و تحديد القدرة المضادة للأكسدة و المضادة للجذور الحرة لسبعة مستخلصات ميثانولية للتمر في الجزائر (مكوية, تيمجوهرت, تقربوشت, الدقلة البيضاء, غرس, دقلة نور, و تدالة).

تحصلنا على مردودية استخراج عالية باستعمال الميثانول كمحلول مذيب. من خلال معايرة متعدد الفينول ومركبات الفلافونويد وجدنا أن الدقلة البيضاء و دقلة نور و تقربوشت لديهم نسب عالية من هاته المركبات. وبالنسبة للكروتينات سجلنا قيم عالية لدى تيمجوهرت, مكوية, دقلة نور, و تقربوشت.

عن طريق الكشف بالجذور الحرة ABTS و DPPH, وجدنا أن القدرة المضادة لهاته الجذور الحرة و المضادة للأكسدة عالية جدا دقلة نور, مكوية و الدقلة البيضاء.

دقلة نور و مكوية لهما قدرة عالية جدا مقارنة مع أنواع التمر الأخرى في Fe^{3+} إلى Fe^{2+}

النشاط المضاد للأكسدة و المضاد للجذور الحرة مرتبط جدا بنسب المركبات الفينولية و الكروتينات الموجودة في مختلف أنواع التمر.

إن التمر في الجزائر يصنف من بين المصادر الطبيعية الممتازة للمؤكسدات الجد مستعملة كحواظف في مجال الأغذية الفلاحية.

الكلمات المفتاحية: الأغذية الفلاحية, المستخلصات الفينولية, القدرة المضادة للأكسدة, النشاط المضاد للجذور الحرة.