

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



**Université de Ghardaïa**

N° d'ordre :  
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre  
Département de Biologie

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences biologiques

**Spécialité :** Biochimie Appliquée

**Par :** BENHAMDOUNE Fatima Zahraa

HADJ AMAR Fatima Zohra

**Thème**

*Étude du pouvoir anti-oxydant des différents  
extraits de Phoenix dactylifera L. de deux variétés  
(Deglet Nour et Ghars) de la région de Metlili*

**Soutenu publiquement le : 25/06/2018**

**Devant le jury :**

<b>Me. MEHAMEDI A.E</b>	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	<b>Président</b>
<b>M<sup>me</sup>. BENSANIA W.</b>	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	<b>Promotrice</b>
<b>Me. BELHACHEMI M.H</b>	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	<b>Examineur</b>

**Année universitaire 2017/2018**

## ***Dédicace***

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie:*

*A la lumière de mes yeux, ma mère qui m'apporté son appui durant toutes mes années d'étude,*

*A mon cher père qui m'appri le sens de la persévérance tout au long de mes études*

*Spéciale dédicace À ma grand-mère pour ses précieux conseils et ses encouragements ; sans oublier mon grand-père*

*A mes très chères sœurs et frères:*

*A mes oncles et tantes*

*A toute la famille "chehma" Et toute ma famille,*

*A tous mes Amis : Zohra, Insaf, Imane, Nadia, Hamida, Fella, fatiha, Bouchra, Soumia, Hafida.*

*A mon Binôme « fatima » qui a partagée avec moi les moments difficiles*

*A tous mes enseignants et ma promotrice **Bensania Wafa**  
Sans oublier mes Amies de la promotion de Biochimie appliquée*

***Fatouma***

## ***Dédicace***

*J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents ma mère **Nedjma**, et mon père*

***Abdelkader**, aucun mot ne pourra exprimer mon amour et mes sentiments envers eux*

*Mes très chers frères et ma sœur **Hayat***

*A ma tante **Khadra** qui est le symbole de l'espoir dans ma vie et sa fille **Bouthina***

*Ma Promotrice **BENSANIA Wafa***

*Tous mes enseignants*

*Ma grande famille Mes chéris amies **Imana**, Fella, Nadia, Hafida, Toha, Hamida*

*Safaa, Hanan et ma chérie Fatouma*

*Je ne sais comment vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi tous mes*

*amis et à ceux qui m'aiment.*

*Fatima Zahraa **TIMO***

## **REMERCIEMENT**

*Tout d'aborde*

*Nous Remercions le grandir Dieu de nos avoir donné la patience et la force pour achève ce travail nous remercions sincèrement madame **BENSANIA Wafa**, maitre au département de biologie à l'université de Ghardaïa, qui a proposé le thème de ce mémoire, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'encadrer et pour son accueil au laboratoire de biologie et pour ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail*

*Nos sincères remerciements vont à monsieur **MEHAMEDI Alaa Eddin**, maître assistant à l'université de Ghardaïa, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous remercions vont également à monsieur **BELHACHEMI Mohamed Elhabib** maitre-assistant on à l'université de Ghardaïa pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi à **Hicham** officiel de magasin des produits chimies des laboratoires de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Qui est désireux de fournir les produits aux étudiants à tout moment possible.*

*Nos remerciements vont aussi à **MOULAI** et **MESATFFA**, qui sont fonctionnaires dans la conduite de l'organisation des laboratoires, merci pour vos efforts en tant que votre valeur.*

*En fin, nous remercions tous les enseignants, nous leur adressons nos sincères pour leur patience et pour tout ce qu'ils nous vont qui sont contribué de près ou de loin à réalisation de ce travail*

## دراسة الخاصية المضادة للأكسدة لمستخلصات أجزاء مختلفة من النخلة (*Phoenix dactylofirea*L.) لصنفين، دقلة نور والغرس، من منطقة متليلي.

### ملخص :

نخيل التمر (*Phoenix dactylofirea*L.) هو رمز النظام البيئي للواحات باستعمالاته المتعددة في الطب التقليدي وقيمه الغذائية... الخ هذا ماجعله محط اهتمامنا. حيث قمنا في هذه الدراسة بالعمل على المستخلصات المائية- الميثانولية لأجزاء مختلفة من النخلة (التمر، القبعة، ساق العرجون والأوراق) لصنفين مختلفين و هما الغرس و دقلة نور بمنطقة متليلي و ذلك بتقييم قدرة مركباتها الفينولية كمضادات للأكسدة.

خصت المرحلة الأولى لهذه الدراسة من تقدير المركبات الفينولية و الفلافونويدات، حيث تم استخلاصهم باستعمال محلول ماء-ميثانول ذو استقطاب 8/2 نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية أظهرت أن جميع المستخلصات غنية بهذه المركبات و التي تراوحت كميتها ما بين 1,36 و 47,98 ملغ / غ مكافئ لحمض الغاليك. بينما تراوحت كمية الفلافونويدات بين 0,26 و 15,07 ملغ/غ مكافئ للروتين.

في مرحلة أخرى من هذا العمل قمنا بدراسة الخاصية المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات باستعمال ثلاث اختبارات كيميائية معروفة ومتداولة : اختبار DPPH، اختبار ABTS ، و اختبار FRAP. أثبتت النتائج أن كل المستخلصات تمتلك فعالية كبيرة في مواجهة الجذور الحرة و ذلك مقارنة مع مضادات الأكسدة المرجعية.

**الكلمات الدالة :**المستخلصات المائية - الميثانولية ، المركبات الفينولية ، الفلافونويدات ، الخاصية  
*Phoenix dactylofirea*L.المضادة للأكسدة،

**Étude du pouvoir anti-oxydant des différents extraits de *Phoenix dactylifera* L. de deux variétés (Deglet Nour et Ghars) de la région de METLILI**

**Résumé :**

Le palmier dattier constitue représente le symbole et la charpente de l'écosystème oasien. Dans cette étude, nous avons focalisée sur les composés phénoliques des extraits hydro-méthanolique des différentes parties du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. (périanthes, pédicelles, folioles du palme et dattes), de deux variétés différentes Ghars et Deglet Nour d'origines de la région de «Metlili-Ghardaïa», et d'étudier leur pouvoir antioxydant In vitro.

Ces différentes parties utilisées sont macérées à un mélange hydro-méthanolique (Méthanol/eau) de rapport 8/2. Le contenu en phénols totaux a été déterminé par l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu, les résultats ont révélé des teneurs globales élevées allant de 1,36 à 47,98 mg EAG/g Mv. Tandis que, le contenu en flavonoïdes exprimé en équivalent de la rutine se déroule entre 0,26 à 15,07 mg ER/g Mv.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits a été estimé in vitro par trois tests chimique suivants : le test du **DPPH** (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); **ABTS** (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) et le test du complexe de **FRAP** (Ferric Reducing/Antioxidant Power). Les résultats confirment que nos extraits exposent un statut antioxydant assez important par rapport aux antioxydants de synthèse.

**Mots clés:** les extraits hydro-méthanolique, composés phénoliques, flavonoïdes, pouvoir antioxydant, *Phoenix dactylifera* L.

**Study of the antioxidant power of the different extracts of *Phoenix dactylifera* L. of two varieties (Deglet Nour and Ghars) from the METLILI region**

**Abstract :**

The date palms the symbol and the frame of the oasis ecosystem. In this study have focus on the phenolic compounds of the hydro-methanolic extracts of the different parts from the date palm *Phœnix dactylifera* L. (perianth, pedicel, leaflet of the palm and date), two different varieties Ghars and Deglet Nour origins of the region of "Metlili-Ghardaia", and study their antioxidant potency in vitro.

These different parts used are macerated with a hydro-methanol mixture (methanol / water) of 8/2 ratio. The total phenol content was determined by the use of Folin-Ciocalteu reagent, the results revealed high overall levels ranging from 1,36 to 47,98 mg EAG / g Mv. While, the flavonoid content expressed in rutin equivalent ranges from 0,26 to 15,07 mg ER / g Mv.

The evaluation of the antioxidant activite of our extracts was evaluated in vitro by three chemical tests: the DPPH test (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); ABTS (2, 2'-azino-bis- (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) and FRAP complex test (Ferric Reducing / Antioxidant Power) .The results confirm that our extracts exhibit a relatively high antioxidant status compared to synthetic antioxidants.

**Key words:** hydro-methanolic extracts, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activite, *Phoenix dactylifera* L.

**ABTS:** 2,2A-Azinobis(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid

**AG:** Acide gallique

**AlCl<sub>3</sub>:** Trichlorure d'aluminium

**DPPH:** 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (Le radical stable [2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl])

**E<sup>-</sup>:** électron

**EC<sub>50</sub>:** La concentration en extrait phénolique nécessaire pour l'inhibition de 50% des radicaux libres

**ER:** équivalent de rutine

**ERO:** Espèces réactives de l'oxygène (oxygénées)

**Fe(II):** Ions ferreux

**Fe<sup>2+</sup>:** Ions ferreux

**Fe<sup>3+</sup>:** Ions ferriques.

**FeSO<sub>4</sub>:** sulfate de fer

**FRAP:** Ferric reducing antioxidant power

**GAE:** Équivalents d'acide gallique

**H<sub>2</sub>O:** Eau

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peroxyde d'hydrogène

**IC<sub>50</sub>:** Concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>: Concentration en antioxydant pouvant réduire 50% du radical DPPH)

**MeOH:** Méthanol

**MF :** matière fraîche

**Ms:** matière sèche

**O<sub>2</sub>:** Oxygène moléculaire

**O<sub>2</sub><sup>-•</sup>:** Anion superoxide

**OH:** Groupe hydroxyle

**OH•:** Radical hydroxyle

**R:** Rendement

**TPTZ:** Ferric 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine.

**Trolox:** Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroma-2-carboxylique

**UV:** Ultra violé

**V.C:** vitamine C ou acide ascorbique

**VIS:** Visible

Liste des tableaux :

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Classification botanique du palmier dattier	9
<b>2</b>	Production des principales variétés de dattes en Ghardaïa par la compagne agricole (2015/2016)	13
<b>3</b>	Aspect et couleur des extraits phénoliques.	22
<b>4</b>	Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes de différents extraits étudiés	26
<b>5</b>	Les valeurs d'IC <sub>50</sub> en (mg/ml) des différents extraits étudiés et l'antioxydant standard	36
<b>6</b>	Les valeurs d'EC1 des extraits phénoliques étudiés et des antioxydants standards	42
<b>7</b>	Les valeurs d'IC <sub>50</sub> en (mg/ml) des différents extraits phénoliques étudiés et l'antioxydant standard	48

	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	situation géographique de Metlili par application de Maps Google	08
<b>02</b>	Figuration schematique du dattier	10
<b>03</b>	Schéma d'une palme	11
<b>04</b>	Coupe schématique d'une datte	11
<b>05</b>	Classification de dattes selon leur consistance	12
<b>06</b>	Réduction de radical libre DPPH• en présence d'antioxydant	18
<b>07</b>	Réduction du tripyridyl-triazine ferrique (Fe <sup>3+</sup> -TPTZ) en présence d'antioxydant	19
<b>08</b>	Structure du 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) : forme réduite ABTS, forme radical cation ABTS <sup>•+</sup>	21
<b>09</b>	Les rendements % des extraits phénoliques	23
<b>10</b>	Comparaison entre les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des différents extraits	31
<b>11</b>	Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux	32
<b>12</b>	Les Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration des phénols totaux des extraits étudiés et de l'antioxydant standard	35
<b>13</b>	Variation des valeurs d'IC <sub>50</sub> du test DPPH en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés	38
<b>14</b>	Les valeurs de FEAC des extraits phénoliques étudiés et les antioxydants standards	41
<b>15</b>	Variation des valeurs d'EC1 du test FRAP en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés	44
<b>16</b>	Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (I%) du radical libre (ABTS. <sup>•+</sup> ) en fonction de la concentration des extraits phénoliques	47

<b>17</b>	Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition (I%) du radical libre (ABTS.+) en fonction de la concentration en antioxydant standard (Trolox).	47
<b>18</b>	Variation des valeurs d'IC <sub>50</sub> du test ABTS en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés	50

<b>Dédicace</b>	
<b>Remerciement</b>	
<b>المخلص</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>Liste des Abréviations</b>	
<b>Liste des Tableaux</b>	
<b>Liste des Figures</b>	
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Matériels et Méthodes</b>	<b>7</b>
<b>I. Matériel</b>	<b>7</b>
I.1-Réactifs chimiques	7
II.2-Matériels végétaux	7
I.2-1. Situation Géographique de la région d'échantillonnage	7
I.2-2. Généralité sur le palmier dattier	8
I.2-3. La datte (fruit)	11
II.2-4. Choix des variétés	13
<b>II. Méthodes d'analyses</b>	<b>14</b>
II.1- Prélèvement et préparation des échantillons	14
II.2- Préparation des extraits	14
II.3-Analyses quantitative	15
II.3- 1. Dosage des phénols totaux	15
II.3- 2. Dosage des flavonoïdes	16
II.4-Activité antioxydant	17
II.4-1 Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	17
II.4-2 Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)	19
II.4-3 Test d'ABST (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)	20
<b>Chapitre II : Résultats et Discussion</b>	<b>22</b>
I. Les rendements d'extraction	22
II. Dosage des phénols totaux et flavonoïdes	25
III. Evaluation du pouvoir antioxydant:	32
III.1- Test du DPPH (1,1-Diphényl-2-Picryl Hydrazyl)	33
III.2- Mesure du pouvoir réducteur ferrique (test FRAP)	40
III.3- Résultats du pouvoir antioxydant par le test ABTS	45
<b>Conclusion Générale</b>	<b>52</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>55</b>
<b>Annexe</b>	



# *Introduction*

De nombreuses plantes, alimentaires ou médicinales, renferment des constituants antioxydants. L'apport régulier en phyto-nutriments possédant des capacités anti-oxydantes significatives est associé à une faible prévalence de maladies liées au stress oxydatif (cancers, maladies cardiovasculaires et athérosclérose) (Badereddine et Moussaoui, 2014).

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les oxydants et les antioxydants, en faveur des premiers et impliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Un stress oxydative pourra être induit lors de la surproduction d'espèces réactives et /ou par suite de l'inhibition des systèmes antioxydants qui peuvent être inactivés, soit directement, soit par défaut de synthèse.

Parmi les espèces réactives de l'oxygène, le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\circ$ ), présenté comme le plus toxique malgré sa faible diffusion, peut attaquer tous les types de constituants cellulaires et engendrer diverses altérations (dégradation protéique, inactivation enzymatique, lipo-peroxydation, adduits à l'ADN, etc.).

La formation d'espèces réactives n'est pas toujours synonyme de toxicité. En effet, certaines sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux. Lorsque les systèmes de défense sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces, la toxicité apparaît (Medjoujda, 2012).

Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle dans la régulation de l'apoptose, l'expression de certains facteurs de transcription ou comme modulateurs de l'expression de gènes de structure codant pour les enzymes anti-oxydantes. Citons aussi le processus de fécondation au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule (Amedjoudj et *al.*, 2017).

Les radicaux libres formés au cours de réactions d'oxydoréduction sont consommés directement par les molécules réductrices, les antioxydants (Bettayeb et Mefissel, 2015). Cependant, ce système de défense est parfois débordé, surtout quand les agressions sont multipliées sous l'effet de la fumée du tabac, de pollution, du soleil, d'un effort physique intense, etc. (Medjoujda, 2012).

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Les antioxydants peuvent être définis comme un ensemble de molécules ou d'éléments susceptibles de prévenir le stress oxydatif cellulaire ou de lutter contre l'extension de ses organiques.

Au sens large, le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxygène, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Marc et al, 2004). Le mode d'action des antioxydants peut être de piéger directement les EROs, d'inhiber les enzymes responsables de la production des EROs ou de protéger les systèmes de défense antioxydants (Grandjean, 2005).

Les systèmes antioxydants sont de deux types, soit enzymatiques catalysant la conversion des molécules oxydantes (Shahin Sharif et *al.*, 2008) comme la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion Peroxydase, la glutathion reductase,...(Goudable et Favier, 1997 ;Amedjoudj et *al.*, 2017), soit non enzymatiques qui sont des molécules captent rapidement les ERO tel que la vitamine C, le glutathion, l'acide urique, la vitamine E et le coenzyme Q en plus les protéines (des composés à grand poids) (transferrine albumine,...) (Pincemilet *al.*, 2002).

Une autre catégorie d'antioxydants selon leur origine, les antioxydants de synthèse par exemple butyl hydroxytoluène (BHT) et butyl hydroxyanisol (BHA) (Krishnaiah et *al.*, 2010) ou bien les antioxydants naturels qui sont représentés généralement en grand groupe de composés phénoliques (Shahin Sharif et *al.*, 2008). Les deux origines sont apportées également par l'alimentation (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les plantes présentent une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une partie importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Badereddine et Moussaoui, 2014).

Alors que, les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. On trouve les métabolites secondaires dans toutes les parties de la plante, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue : les composés phénoliques ; les alcaloïdes ; les mucilages ; les huiles essentielles et les latex (Badereddine et Moussaoui, 2014).

Pendant longtemps, ces composés ont été considérés comme secondaires et métaboliquement inactifs, ils ne suscitaient donc que peu d'intérêt. A l'heure actuelle, cette opinion a changé, du fait de nombreuses recherches qui ont largement montrées que ces composés ne sont pas inertes et contribuent efficacement dans la biosynthèse de divers métabolites de l'organisme (Badereddine et Moussaoui, 2014).

Actuellement les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les composés phénoliques (Khenfer et Medjouel, 2016). En effet, de nombreuses revues leur confèrent le rôle d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène ( $O_2\cdot$ ,  $HO\cdot$ ,  $NO\cdot$ ,  $H_2O_2$ ) provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides nucléiques (ADN, ARN).

Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neuro dégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (Quideau *et al.*, 2011).

Ces composés elles comportent les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les anthocyanes et les tannins (Badereddine et Moussaoui, 2014). Ils ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé. Notons aussi leurs diverses propriétés biologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato protective, antimicrobienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vas dilatoire citées dans la littérature (Khenfer et Medjouel, 2016).

Le terme « *polyphénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les mono phénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono- di- et polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Benarous, 2009).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils sont présents dans les vacuoles des tissus. Ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnements UV...) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume). Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement. Ils se caractérisent par la présence de groupements phénoliques (présence d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles sur un cycle benzénique) dans leur structure (Kühnau 1976).

Les plantes consommées par l'homme fournissent plus de 8000 composés phénoliques classés en différentes familles selon la nature de leur squelette carboné (Bruneton, 2009). On distingue :

- Les acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3)
- Les flavonoïdes (C6-C3-C6)
- Les lignanes (C6-C3-C3-C6)
- Les stilbènes (C6-C2-C6).

Les flavonoïdes sont le groupe le plus commun des composés phénoliques végétaux et l'un de constituants naturels les plus nombreux et les plus répandus ; ils sont importants pour l'homme et contribuent à la couleur des plantes (Amedjoudj *et al.*, 2017).

Les flavonoïdes sont des antioxydants puissants, des piègeurs de radicaux libres, des chélateurs de métaux et inhibent la peroxydation des lipides. Les exigences structurales pour les fonctions antioxydantes de flavonoïdes comprennent un groupe hydroxyle en position carbone trois, une double liaison entre les positions de carbone deux et trois, un groupe carbonyle en position carbone 4 et la poly hydroxylation des anneaux aromatiques A et B (Amedjoudj *et al.*, 2017).

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) constitue l'une des cultures les plus importantes dans les zones arides de l'Afrique du Nord.

Il est une composante essentielle de l'écosystème oasien; grâce à sa remarquable adaptation aux conditions climatiques, la haute valeur nutritive de ses fruits, les multiples utilisations de ses produits et sa morphologie favorisant d'autres cultures sous-jacentes (Djoudi, 2013).

L'importance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) va encourager les chercheurs d'étudier la composition phytochimique des dattes tandis que les études sur les autres constituants du palmier dattier restent peu nombreuses (BehijaSaafi *et al.*, 2011).

Dans ce contexte, cette étude est réalisée sur la quantification des composés phénoliques et flavonoïdes de différentes parties (périanthes ; pédicelles ; datte et les folioles du palme) de deux variétés du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L., Ghars et Deglet Nour, de la région de Metlili (Ghardaïa) et d'évaluer leur pouvoir antioxydant en vue de leur utilisation ultérieure dans le domaine pharmaceutique ou industriel.

Cette étude est présentée selon le plan suivant :

- La première partie présente une introduction généralisée concernant les principales données relatives à cette étude tels que le stress oxydatif; l'activité antioxydante ; les antioxydants ; les composantes phénoliques ; les flavonoïdes et bien sûr le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L.
- la deuxième partie, c'est une étude expérimentale comprenant un chapitre de matériel et méthodes qui explique l'ensemble des produits chimiques et réactifs utilisés et les méthodes de quantifier les composés phénoliques et les flavonoïdes dans nos extraits et d'évaluer leur pouvoir antioxydant en adoptant des tests biochimiques DPPH ; FRAP et ABTS.
- Le deuxième chapitre de la partie expérimentale présente les résultats et discussion qui ont été trouvés à partir du travail réalisé en premier chapitre : le dosage et le pouvoir antioxydant des composés phénoliques et flavonoïdes pour les différentes parties étudiées (péricarpes ; pédoncules ; dattes et les folioles du palmier) de deux variétés du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L., Ghars et Deglet Nour.
- On terminera cette étude par une conclusion générale donnant les principaux résultats obtenus durant cette étude ainsi que les perspectives qui feront l'objectif d'ultérieurs travaux et une liste complète des références bibliographiques pour l'ensemble des parties.

*Matériel et  
Méthodes*

## Chapitre I : Matériels et Méthodes

### I. Matériel

#### I.1-Réactifs chimiques :

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude ont été fournis par Université de Ghardaïa (département de biologie); sont achetés de Sigma Aldrich, Fluka analyticals et VWR Prolabo Chemicals.

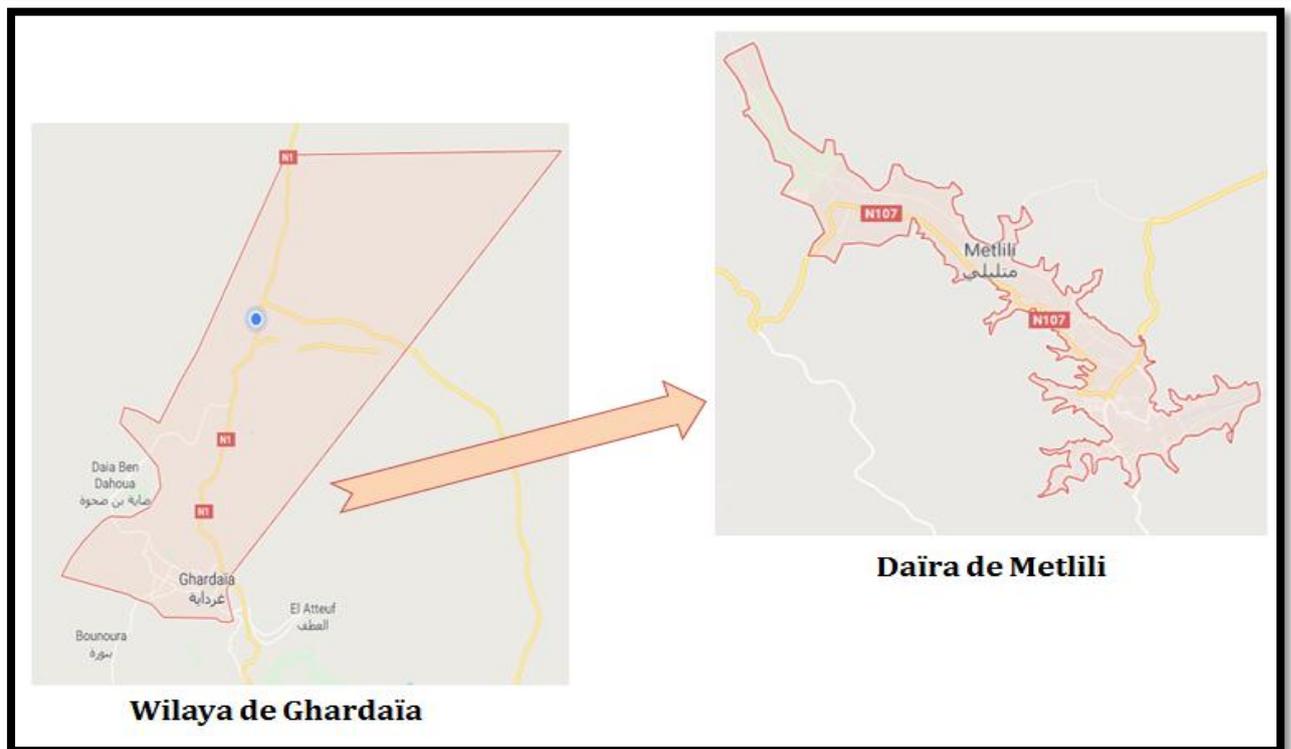
#### II.2-Matériels végétal :

Le matériel végétal étudié est constitué de certains constituants de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) d'origine de la région de «Metlili-Ghardaïa». La récolte a été effectuée au cours du mois Octobre 2017.

Les différentes parties étudiées sont les dattes, les périanthes, les pédicelles et les folioles des palmes de deux variétés différentes du *Phoenix dactylifera* L (Ghars et Deglet Nour).

#### I.2-1. Situation Géographique de la région d'échantillonnage :

Metlili est une daïra de wilaya de Ghardaïa en Algérie située à 40 km au sud de Ghardaïa.



**Figure 1** : localisation géographique de Metlili par application de Maps Google

### I.2-2. Généralité sur le palmier dattier :

Le palmier dattier dans les régions aride du monde est une plante plus importante sur la plane écologique, économique et sociale (Bounaga, 1991).A été dénommé *Phoenix dactylifera* par LINNE en 1734. *Phoenix* dérive de phoinix, nom du dattier chez les Grecs de l'antiquité, qui le considéraient comme l'arbre des phéniciens; *Dactylifera* vient du latin *dactylus* dérivant du grec *daktulos*, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit (Munier et *al.*, 1973).

C'est une espèce arborescente connue pour son adaptation aux conditions climatiques très sévères des régions chaudes et sèches (Ghazi et Sahraoui, 2005). C'est une espèce thermophile puisqu'il exige un climat chaud, sec et ensoleillé. Il s'adapte à tous les sols. Ainsi, il est sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (Munier et *al.*,1973).

#### I.2-2. a- Position systématique :

*Phoenix dactylifera* L. est une espèce dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des *Palmaceae*, et à la sous-famille des *Coryphineae*. La famille des *Palmaceae* compte environ 235 genres et 4000 espèces. Le genre *Phoenix* comporte douze espèces d'après Chevalier (1952) cité par Munier (1973)(voir l'annexe 1)(Munier et *al.*, 1973).

La place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous (tableau 1)(Djoudi, 2013)

**Tableau 1** : Classification botanique du palmier dattier (Djoudi, 2013).

<b>Groupe</b>	Spadiciflores
<b>Ordre</b>	Palmales
<b>Famille</b>	Palmacées
<b>Sous famille</b>	Coryphoidées
<b>Tribu</b>	Phoenicées
<b>Genre</b>	<i>Phoenix</i>
<b>Espèce</b>	<i>Phoenix dactylifera</i> L.

#### **I.2-2. b- Description botanique:**

Le Palmier Dattier est une plante à croissance apicale dominante avec un stipe de 20 à 30 mètres de haut, portant une couronne de feuilles ou palmes 4 à 7 mètres de longueur. Le diamètre du tronc de l'arbre généralement stable sous les mêmes conditions à partir de l'âge adulte.

L'espèce est dioïque et porte des inflorescences mâles ou femelles. La pollinisation peut se faire par le vent, cependant en culture, le nombre réduit de palmiers males oblige à pratiquer une pollinisation artificielle. La fleur femelle comporte trois carpelles indépendants dont un seul se développe pour donner la datte (le fruit).

La propagation des palmiers dattiers se fait soit par clonage, soit par prélèvement de drageons afin de conserver les cultivars choisis (Bouguedoura, 1991).

Comme montre la figure 2, le palmier dattier est constitué de :

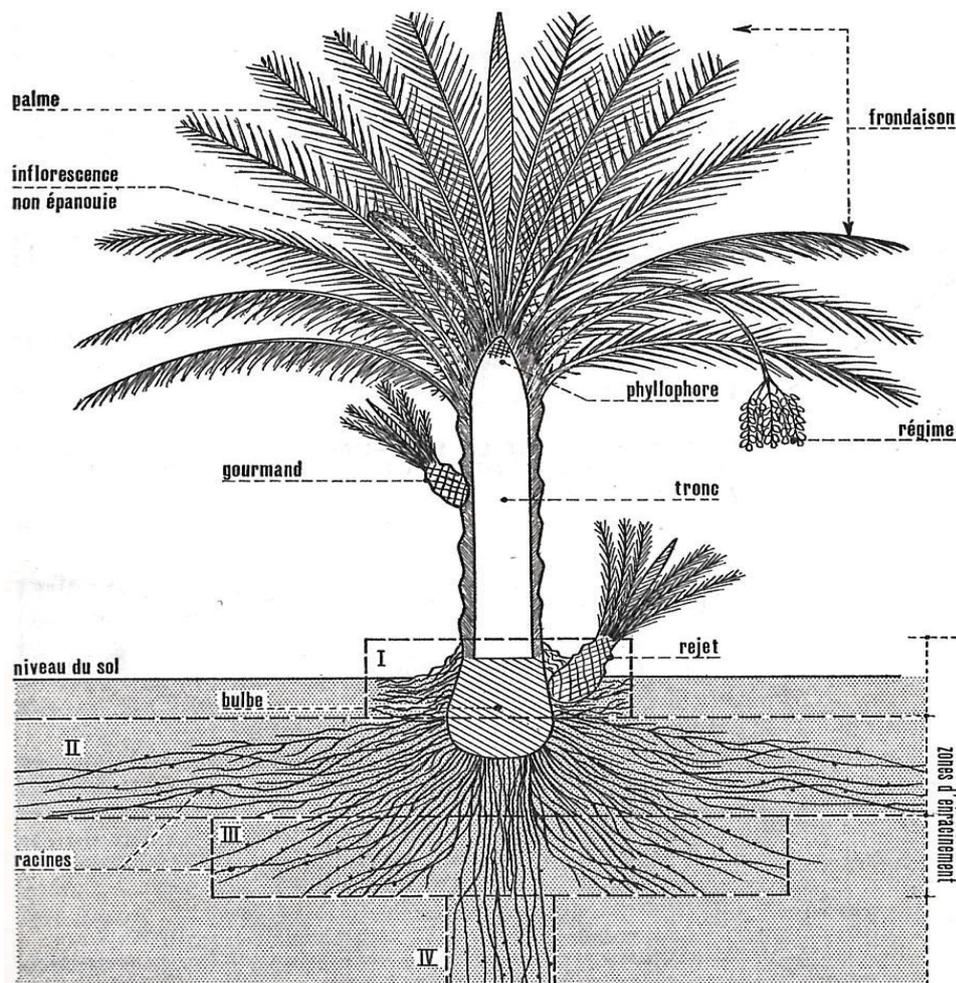
\***Le troc** : peut atteindre, pour certaines variétés 25 m de longueur. Ce stipe est en général cylindrique uniforme pour certains cultivars, relativement tronconique pour d'autres.

\***Le système racinaire** : est de type fasciculé souvent très puissant, repartit en 4 zones.

\***L'inflorescence** : le palmier est une plante dioïque, les sexes sont donc séparés en palmier femelle donnant les fruits et palmier male dit pollinisateur produisant du pollen.

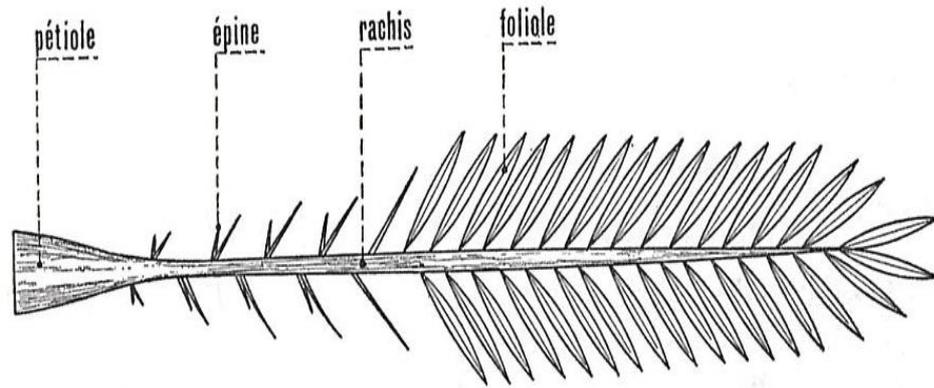
\***Le régime** : les fruits sont plus ou moins insérés sur les épillets qui sont groupés pour former le régime.

\***Le fruit** : la datte.



**Figure 2** : Figuration schématique du dattier (Munier et *al.*, 1973).

\***Les palmes** : Ce sont des feuilles composées, pennées. Les folioles sont régulièrement disposées en position oblique le long du rachis, isolées ou groupées, pliées longitudinalement en gouttière. Les segments inférieurs sont transformés en épines, plus ou moins nombreuses, plus ou moins longues. En général, les premières folioles situées au-dessus des épines sont plus longues que celles situées à l'extrémité supérieure de la palme. La couleur et la finesse des folioles varient avec les clones ; leur épiderme est recouvert d'un enduit cireux. A l'extrémité inférieure de la palme, le rachis s'élargit pour former le pétiole s'insérant directement sur le tronc (figure 3) (Munier et *al.*, 1973).

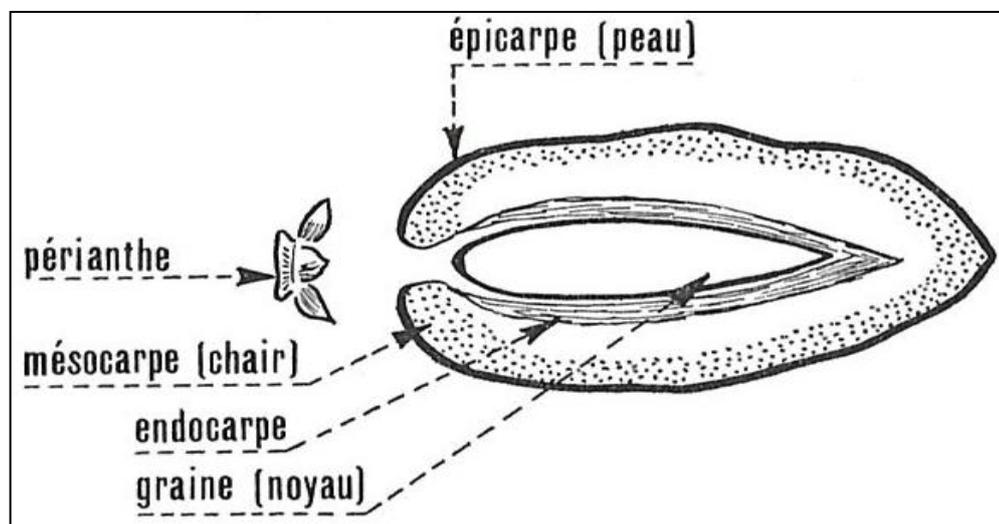


**Figure 3** : Schéma d'une palme (Munier *et al.*, 1973).

### I.2-3. La datte (fruit) :

#### II.2-3. a- Généralité sur les dattes:

Le fruit du dattier, la datte, est une baie contenant une seule graine, vulgairement appelée noyau. La datte est constituée d'un mésocarpe charnu, protégé par un fin péricarpe ; le noyau est entouré d'un endocarpe parcheminé, il est de forme allongée, plus ou moins volumineux, lisse ou pourvu de protubérances latérales en arêtes ou ailettes, avec un sillon ventral, sa consistance est dure et cornée.



**Figure 4** : Coupe schématique d'une datte (Munier *et al.*, 1973).

La couleur de la datte est variable selon les espèces : jaune plus ou moins clair, jaune ambré translucide, brun plus ou moins prononcé, rouge ou noire. Sa consistance est également variable, elle peut être molle, demi-molle ou dure, les dattes à consistance dure sont dites dattes sèches, leur chair a un aspect farineux (Munier *et al.*, 1973).

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

Le périanthe, encore appelé vulgairement calice ou cupule, subsiste toujours et reste parfois adhérent au fruit (Munier et *al.*, 1973).

Les dattes sont regroupées en trois catégories suivant leur consistance, cette classification a été établie par les Américains et elle est valable pour les variétés d'Algérie et les autres pays phoénicoles (Absi, 2013). Ainsi les différentes catégories sont définies comme suit :

- **Dattes molles:** Ahmar (Mauritanie), Kashram et Miskani (Egypte, Arabie Saoudite), Ghars (Algérie).
- **Dattes demi-molles:** Deglet-Nour (Tunisie, Algérie), Mejhoul (Mauritanie), Sifri et Zahidi (Arabie-Saoudite).
- **Dattes sèches de consistance dure:** Degla-Beïda et Mech-Degla (Tunisie et Algérie), Amersi (Mauritanie). (figure 5)



**Figure 05 :** Classification de dattes selon leur consistance (Absi, 2013).

### II.2-3. b- Statistique sur le potentiel et la production des dattes algériennes :

Selon les statistiques de Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, le palmier dattier occupe en Algérie une superficie évaluée à 167000 hectares pour un nombre de palmiers estimé à plus de 18.6 millions d'unités et une production de dattes de près de 990.000 tonnes. Au plan mondial et selon les statistiques de la FAO, l'Algérie se classe en 4<sup>ème</sup> position en la production de dattes.

Les régions phoenicicoles se situent généralement au sud de l'atlas saharien et couvrent 17 wilayas. La wilaya de Ghardaïa est classée au cinquième rang national en terme de production de dattes avec une superficie 10.850 hectares et 1.246.500 d'unités de palmier dattier.

Les variétés de dattes sont nombreuses mais seules quelques-unes ont une importance commerciale. Les principales variétés de dattes produites en Algérie sont les suivantes :

- Deglet nour
- Ghars
- Degla beida ou garbi

La production de dattes par variété dans la wilaya de Ghardaïa se présente comme suit (tableau 2) :

**Tableau 02** : Production des principales variétés de dattes en Ghardaïa par la campagne agricole (2015/2016)

	Production dattes (Qx)			
	DEGLET NOUR (Dattes fines) (qx)	GHERS ET ANALOGUES (Dattes molles) (qx)	DEGLET BEIDA ET ANALOGUES (Dattes sèches) (qx)	TOTAL (qx)
<b>TOTAL des Exploitations</b>	21 015,00	4 987,00	28 710,00	54 712,00

### II.2-4. Choix des variétés :

Dans la présente étude, les variétés de dattes choisies sont Deglet Nour et Ghars, Le choix de ces variétés est justifié par sa qualité gustative ; sa disponibilité sur le marché et sa large consommation à travers le territoire Algérien et Européenne.

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

La seconde variété Ghars: appartient à la catégorie de dattes molles à base de sucres : fructose et glucose. Elle se consomme généralement dans les régions où elle est produite, et ce en raison des difficultés de sa conservation. Cette variété est de moindre importance économique par rapport à Deglet-Nour.

## **II. Méthodes d'analyses**

### **II.1- Prélèvement et préparation des échantillons :**

Les procédures de préparation des échantillons pour l'analyse des composés phénoliques varient beaucoup en fonction de la nature des composés à analyser. En général, les échantillons solides sont soumis à un broyage et à un tamisage, souvent précédés par une étape de séchage à l'air libre du matériel végétal à analyser. Les échantillons liquides sont centrifugés et filtrés.

Dans cette étude, les différents constituants du palmier dattier (péricarpes, pédoncules ; dattes et folioles du palme) ont été récoltés au cours du mois Octobre 2017 au niveau la région de «Metlili» (Ghardaïa) pour les deux variétés Deglet Nour et Ghars. Les différents échantillons sont soumis à un broyage par le broyeur de type (IKA-WERKE M20) et à un tamisage, souvent précédés par une étape de séchage à l'air libre et à température ambiante. Également, les dattes sont prélevées au stade de maturation complète (stade tamar) et sont conservées à -20°C.

### **II.2- Préparation des extraits:**

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. La préparation des extraits est se fait par les méthodes d'extractions liquide - liquide et/ou solide-liquide sont les procédures les plus couramment utilisées.

Nos échantillons à extraire par la méthode d'extraction solide-liquide (macération) dans une solution hydro-méthanolique, qui c'est une méthode facilement d'utiliser et très efficace.

**Protocole expérimental :**

Une quantité de 1g de poudre précédemment obtenu des périanthes, des pédicelles et des palmes est macérée dans une solution hydro-méthanolique (20 ml) de rapport volume méthanol/eau (8/2) pendant un temps de 48heure à température ambiante et à l'obscurité ; puis filtrée sur papier filtre. Les macéras hydro-méthanolique sont évaporées par le rota vapeur de type (HeizbadHei-VAP Heidolph).

L'extraction des composés phénoliques à partir les dattes se fait de même manière que les autres constituants, tandis qu'elle est précédée par le séchage des dattes dénoyautées dans l'Etuve à température 37 °C pour but d'éliminer l'eau.

Les résidus sont repris dans un volume déterminé de méthanol et les conservés à 4°C jusqu'à leur étude.

**II.3-Analyses quantitative :**

**II.3- 1. Dosage des phénols totaux :**

Le dosage des phénols totaux des différents extraits de *Phoenix dactylifera* L. est réalisé par la méthode de Singleton et Ross (1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

**Principe :**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (Kaanin et Harfi, 2012).

Cette coloration bleue, l'intensité, est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu dont donne un maximum d'absorption à 760 nm. Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique

**Protocole du dosage :**

Dans des tubes à essais, on met 100 µl d'extrait obtenu et 500µl de Folin-Ciocalteu dilué dix fois. Le mélange est bien agité et laissé 5 min à l'obscurité et à température ambiante. Après, on ajoute 2 ml de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2%) avec une agitation vigoureuse. Après incubation de 30 min à température ambiante et à l'obscurité. La lecture de l'absorbance se fait au spectrophotomètre UV-Visible (SPECTROSCAN 40) à 760 nm.

On effectue la même opération pour l'acide gallique à différentes concentrations en introduisant 100 µl de ces dernières dans une série de tubes et ajout des autres réactifs. Toutes les mesures sont réalisées en duplicata.

Les concentrations des phénols totaux contenus dans les extraits des différents constituants du palmier dattier(périanthes, pédicelles, folioles du palme et dattes)sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique/g de MV.

### **II.3- 2. Dosage des flavonoïdes :**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode adaptée de Lamaison et Carnat (1991) avec le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (Bahorun, 1997).

#### **Principe :**

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO en position 4, un complexe jaunâtre avec le chlorure d'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 (Kaanin et Harfi, 2012).

Afin de quantifier les teneurs en flavonoïdes totaux dans nos extraits, une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde étalon, la rutine, a été tracée.

#### **Protocol de dosage :**

Dans un tube à essai, 1 ml d'extrait est mélangé avec 1 ml de solution de chlorure d'aluminium à 2 %. Après incubation pendant 20 min à température ambiante, l'absorbance est lue dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc.

On effectue la même opération pour la rutine à différentes concentrations en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> à 2%. Toutes les opérations sont réalisées en duplicata.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les différents extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage de la rutine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent la rutine/ g de MV.

#### **II.4-Activité antioxydant :**

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans cette étude, nous avons choisi trois tests chimiques pour évaluer le pouvoir anti-radicalaire des extraits de différents constituants du palmier dattier (péricarpes, pédoncules, folioles du palmier et dattes) : test de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ; test Ferric Reducing / Antioxydant Power (FRAP) et test de 2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS).

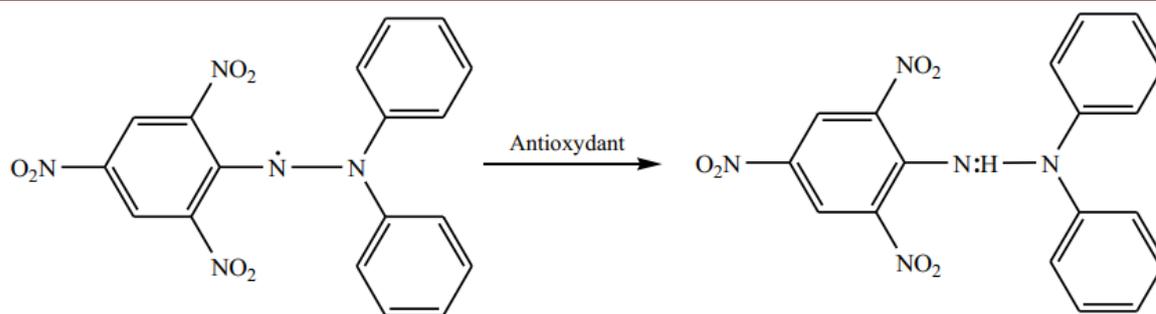
##### **II.4-1 Test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl):**

###### **Principe :**

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) comme un radical libre relativement stable, selon le protocole décrit par Mansouri et *al.* (2005).

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm (Wootton et *al.*, 2011). Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques.

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la décoloration de la solution qui est exprimée par une diminution de l'absorbance. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres (Boubekri, 2014).



**Figure 6** : Réduction du radical libre DPPH• en présence d'antioxydant (Congo, 2012).

### Protocole expérimental:

Nos extraits testés pour leur pouvoir anti-radicalaire, ont été solubilisés dans du méthanol à différentes concentrations. 100µl de chaque dilution est mélangé avec 1 ml de la solution méthanolique du DPPH<sup>•</sup> (250µM), ce mélange est agité fortement puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée par un spectrophotomètre UV-Visible à 517 nm. À titre comparatif le pouvoir anti-radicalaire d'un standard (le Trolox) a été mesuré suivant la même procédure citée précédemment.

Les mesures de densités optiques de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition du DPPH<sup>•</sup> suivant la formule (Kunga *et al.*, 2009) :

$$\% \text{d'inhibition} = (A_{\text{Témoin}} - A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Témoin}}) * 100$$

Où :  $A_{\text{Témoin}}$  : désigne l'absorbance de DPPH<sup>•</sup> seul sans antioxydant.

$A_{\text{Echantillon}}$  : représente l'absorbance de DPPH<sup>•</sup> en présence de l'antioxydant.

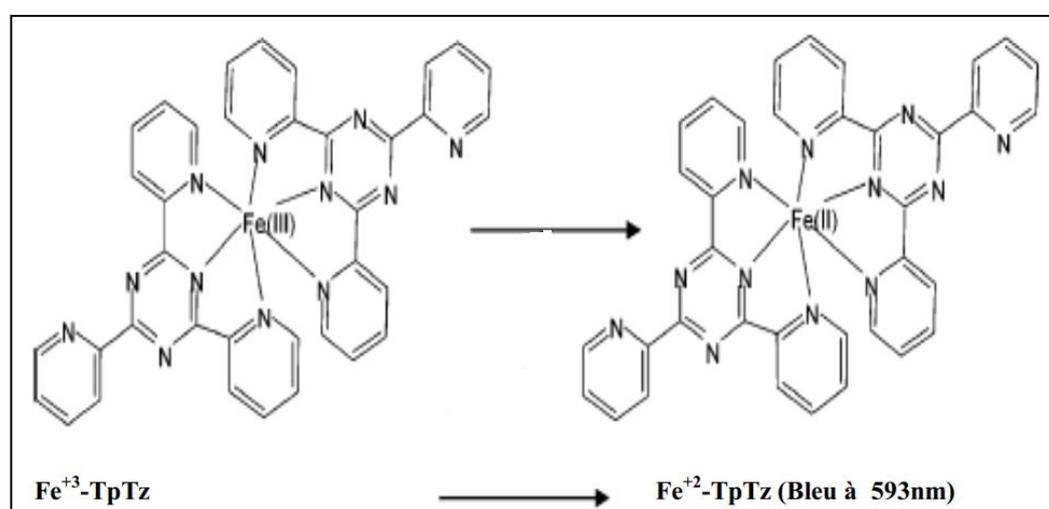
Ensuite, le traçage du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant (composés phénoliques) ou antioxydant standard choisi a permis d'obtenir la concentration  $IC_{50}$  qui définit comme la concentration nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH (Kroyer, 2004).

## II.4-2 Test de FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power):

Le pouvoir de réduction ferrique est déterminé en utilisant un dosage de FRAP selon la méthode qui décrite par (Benzie et Strain, 1996) et modifiée par Pulido et ses collaborateurs (2000).

### Principe

Cette méthode est développée pour mesurer le potentiel des antioxydants présents dans un extrait par leur capacité de réduire le complexe tripyridyl-triazine ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) en ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) à pH acide (figure 7). L'augmentation de l'absorbance indique l'élévation du pouvoir réducteur des extraits testés (Ali Haimoud, 2017).



**Figure 7 :** Réduction du tripyridyl-triazine ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) en présence d'antioxydant (Ali Haimoud, 2017).

### Protocole expérimental

Le réactif de FRAP a été préparé en mélangeant 25 ml du tampon d'acétate (300 mM, pH 3.4) avec 2.5 ml de la solution du TPTZ (10 mM dans 40 mM HCl) et 2.5 ml de la solution du trichlorure de fer  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (20 mM) respectivement. 100  $\mu\text{l}$  de chaque extrait méthanolique est ajouté à 1 ml d'une solution fraîche du réactif FRAP et incubé pendant 7 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 593 nm.

À titre comparatif, le pouvoir de réduction ferrique des deux standards (l'acide ascorbique et l'acide caféique) a été mesuré suivant la même procédure citée précédemment.

Les résultats sont exprimés en mg/ml de Fe (II) par l'utilisation de l'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de  $\text{FeSO}_4$ .

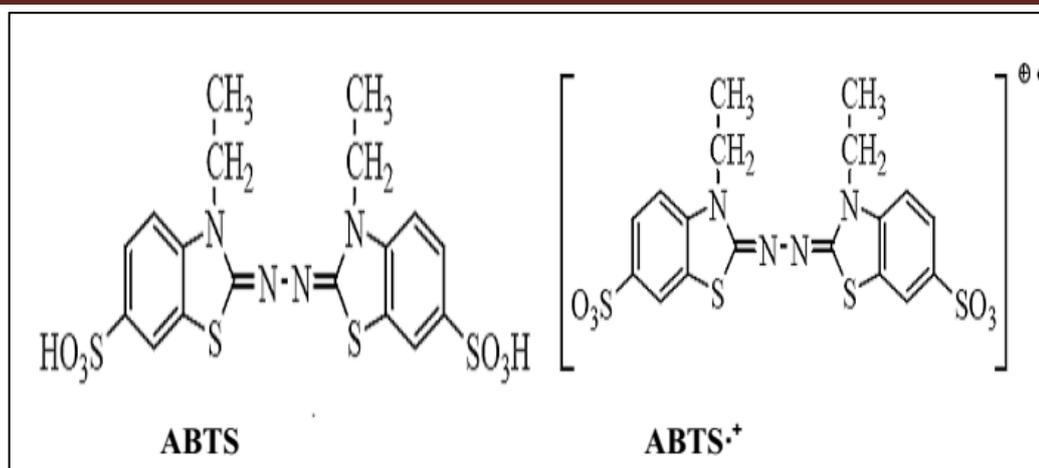
Ainsi, le paramètre EC1 (concentration équivalente 1), des extraits et les standards, est calculé. Il est défini comme la concentration de l'antioxydant qui donne une réduction du TPTZ équivalent à 1mM du  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

#### **II.4-3 Test d'ABST (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) :**

La capacité des extraits de dattes, des périanthes, des pédicelles et des foliole du palme de deux variétés de *Phoenix dactylifera* L. : Ghars et Deglet Nour a piégé le radical (ABTS<sup>•+</sup>) est déterminée par une méthode décrite par Cano et al. (1998).

#### **Principe**

Le test de balayage ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination du pouvoir anti-radicalaire d'un antioxydant dans un mélange. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé [2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)] ou ABTS<sup>•+</sup> a été généré en présence de la peroxydase, la réaction est initiée avec l'ajout de la solution de peroxyde d'hydrogène (Prouillac, 2006).



**Figure 8** : Structure du 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) : forme réduite ABTS, forme radical cation  $ABTS^{\bullet+}$  (Prouillac, 2006).

En présence d'un antioxydant (extraits phénoliques), le passage du radical  $ABTS^{\bullet+}$  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 415 nm (Chen *et al.*, 2004).

### Protocole expérimental :

Pour pouvoir générer le radical cationique  $ABTS^{\bullet+}$  nous avons préparé trois solutions différentes constituées d'une solution aqueuse d'ABTS (20mM) ; une solution aqueuse de  $H_2O_2$  (1mM) et une solution de la peroxydase (préparée dans un tampon phosphate pH=5) de concentration massique (0,2 mg/ml). Le mélange des trois solutions présente une coloration bleu-vert correspondant à la formation du radical cationique  $ABTS^{\bullet+}$ .

À 100  $\mu$ l de chaque dilution de l'extrait 1 ml de la solution d' $ABTS^{\bullet+}$  est ajouté, le mélange est ensuite agité puis incubé pendant 5 min à l'obscurité. La mesure de l'absorbance du milieu réactionnel est faite à 415 nm.

Le pourcentage d'inhibition de l' $ABTS^{\bullet+}$  pour chaque extrait et pour l'antioxydant standard (Trolox) a été calculé selon la formule ci-dessous (Yu *et al.*, 2004) :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_{\text{Témoin}} - A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Témoin}}) * 100$$

Où :  $A_{\text{Témoin}}$  : désigne l'absorbance d' $ABTS^{\bullet+}$  seul sans antioxydant.

$A_{\text{Echantillon}}$  : représente l'absorbance d' $ABTS^{\bullet+}$  en présence de l'antioxydant.

# *Résultats et Discussion*

## Chapitre II : Résultats et Discussion

### I. Les rendements d'extraction :

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est l'extraction par macération. C'est une méthode traditionnelle, a été couramment employée. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation à température ambiante (Spigno *et al.*, 2007), ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules bioactives qui sont sensibles aux changements de température pour une durée déterminée (Lecheheb, 2010).

Cette macération a été effectuée par un mélange hydro alcoolique méthanol/eau (8/2 V/V) pour extraire les principes actifs. De ce fait, huit extraits ont été obtenus à partir d'une simple macération à froid.

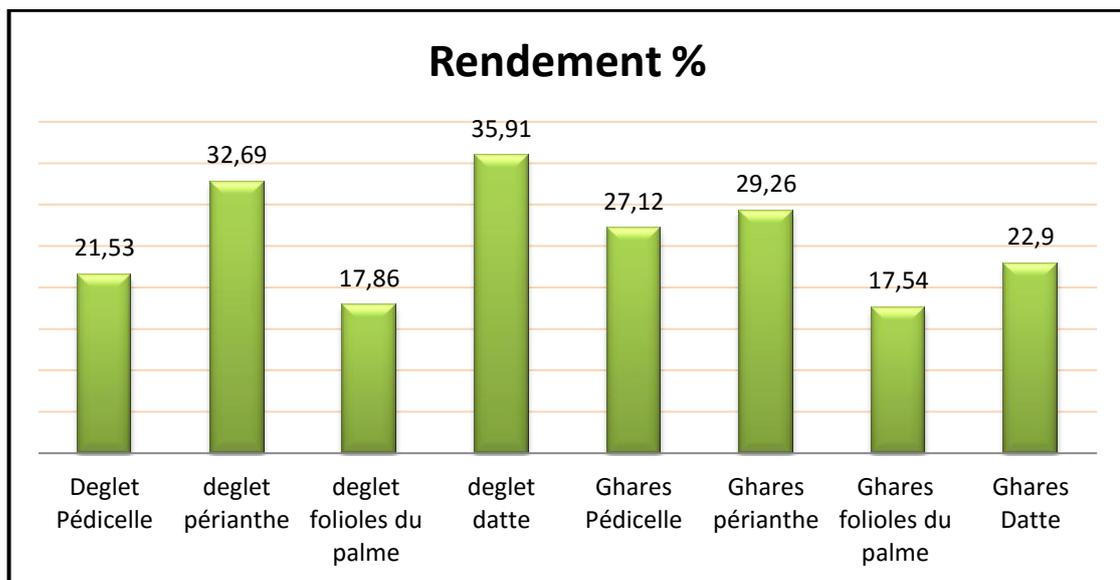
Les extraits présentent généralement un aspect pâteux pour tous les extraits avec des couleurs différentes (Marron foncé, Marron claire et verte). La couleur et l'aspect de chaque extrait sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3 :** Aspect et couleur des extraits phénoliques.

La variété	Extrait	Couleur	Aspect
Ghars	Pédicelle	Marron claire	Pâteux
	Périanthe	Marron foncé	Pâteux
	Folioles du palme	Verte	Pâteux
	Datte	Marron claire	Pâteux
Deglet Nour	Pédicelle	Marron claire	Pâteux
	Périanthe	Marron foncé	Pâteux
	Folioles du palme	Verte	Pâteux
	Datte	Marron claire	Pâteux

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

Le rendement d'extraction a été déterminé par rapport la masse initiale de la matière végétale étudiée, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Les rendements d'extraction des différentes parties étudiées du palmier dattier des deux variétés sont reportés dans l'histogramme ci-dessous :



**Figure 9** : Les rendements d'extraction des composés phénoliques

L'analyse générale des résultats obtenus montre que le rendement d'extraction est varié entre 17,54% et 35,91%. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait de dattes Deglet Nour, tandis que le plus faible est celui de l'extrait de folioles du palme Ghars 17,54%.

D'après nos résultats, on observe ainsi que le rendement d'extraction pour la partie pédicelle de la variété Ghars est plus grand par rapport à ce de la variété Deglet Nour avec un pourcentage de 27,12%. Également, la variété Deglet Nour représente les valeurs de rendement les plus élevés par rapport à la variété Ghars pour les autres parties étudiées (périanthes, folioles du palme et dattes).

Au regard l’histogramme, les teneurs d'extraction obtenues entre les deux variétés sont très proches entre eux pour chaque partie du palmier dattier avec une légère différence qui a enregistré pour la partie de dattes de la variété Deglet Nour.

Ainsi, les extrait de dattes et de périanthes des deux variétés donnent des rendements plus supérieurs par rapport les autres extrait. Ce qui indique que les molécules actives des dattes et de périanthes sont plus solubles dans le solvant hydro-méthanolique choisi.

Comme on peut le voir, le rendement d'extraction reste faible, Bien qu'il ait été utilisé le mélange hydro-méthanolique qui aisément extraits la plus part des composés phénoliques qui présents dans la vacuole; mais ne peut pas être pour les phénols insolubles au niveau des parois pecto-cellulosiques qui peuvent être les constituants majoritaires de nos extraits (Machiex et *al.*, 2005).

Les composés phénoliques sont classés comme des molécules plutôt hydrosolubles. Ils sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte. A la base de cette propriété, les solvants utilisés pour l’extraction sont le méthanol, qui présente une polarité moyenne, et l’eau dont la polarité est la plus élevée (Lecheheb, 2010).

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n’est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques de matériel végétal ainsi qu’à l’origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte et aussi aux méthodes d’extraction appliquées (Falleh, 2008).

Dans cette étude, la méthode d’extraction utilisée est la macération à froid qui est relativement peu coûteuse, la plus simple et aussi permet de préserver la bio-activité de ses principes actifs et de maximiser le temps de contact du solvant avec le matériel végétal (Khenfer et Medjouel, 2016).

Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d’extraction à température ambiante qui permet d’obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d’autres méthodes d’extraction. Cette méthode est influencée par une série de facteur incluant la nature du matériel végétal, concentration en solutés de l’échantillon, la nature du solvant et la durée d’extraction (Spigno et *al.*, 2007).

## II. Dosage des phénols totaux et flavonoïdes :

Au moyen spectrophotométrique UV-Visible, en mesurant à une longueur d'onde précise (la longueur d'onde d'absorption maximale ( $\lambda_{\max}$ ) de la molécule ou du complexe qu'elle forme avec un réactif), l'intensité d'absorption (densité optique, DO) par rapport à un témoin de concentration connue, permettra de déterminer la quantité de la molécule présente dans un échantillon.

Afin de caractériser les extraits méthanoliques des différentes parties du palmier dattier pour les variétés Deglet Nour et Ghars, une série de dosage spectrophotométrique des phénols totaux et des flavonoïdes a été effectuée. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes sont attribuées à ces molécules.

Les quantités des phénols totaux et des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en microgramme d'équivalents de l'étalon utilisé par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EE/mg d'extrait}$ ) et déterminées par l'équation de type :  $y = a x + b$ . Pour cet objectif, deux droites d'étalonnages ont été tracées qui sont réalisées avec des solutions d'étalons à différentes concentrations.

Le dosage des phénols totaux des extraits des différentes parties étudiées (pédicelles, périanthes, folioles du palme et dattes) est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ( $\text{WO}_4^{2-}$ ) et phosphomolybdique ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) du réactif de Folin-Ciocalteu par les groupement oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation des produits de réduction de couleur bleu (tungstène et de molybdène). Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phénols totaux présents dans l'échantillon (Li *et al.*, 2007).

L'acide gallique est le standard qui est utilisé à ce dosage. Il est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu. Ainsi, c'est un composé de coût peu élevé et se solubilisé facilement dans l'eau (annexe 02).

Le dosage des flavonoïdes, qu'ils sont l'un des groupes les plus diverse et répandue des composés naturels et se sont les composés phénoliques naturels les plus importants (Djeridane *et al.*, 2010), a été réalisé selon la méthode de Lamaison et Carnat (1991) en utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) comme réactif (Bahorun, 1997 ; Yi *et al.*, 2007).

La méthode d' $\text{AlCl}_3$  est simple, peu coûteuse et offre une bonne sensibilité. Cette méthode permet de déterminer la teneur en flavonoïdes totale, qui forment un complexe jaunâtre avec  $\text{AlCl}_3$  absorbe à 409 nm, même en présence d'autres composés phénoliques qui ne peut pas former un complexe avec  $\text{AlCl}_3$  (Laouini, 2014).

La concentration en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale initiale (mg EAG/g MV). Tandis que la quantification des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage de la rutine (annexe 02) et exprimée en milligrammes d'équivalents de la rutine par milligramme de matière végétale initiale (mg ER/g MV). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 4 :** Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes de différents extraits étudiés

Variété	Extraits	Teneur en Phénols Totaux (mg EAG/g)	Teneur en Flavonoïdes (mg ER/g)
<b>Ghars</b>	Pédicelle	15,43 ±0,034	02,83±0,0015
	Périanthe	12,29±0,027	03,55±0,0085
	Folioles du palme	48,98 ±0,155	15,07±0,013
	Datte	01,83±0,025	00,40±0,002
<b>Deglet Nour</b>	Pédicelle	12,74±0,018	02,57±0,022
	Périanthe	11,90±0,028	03,23±0,0085
	Folioles du palme	27,72±0,0005	12,52±0,0355
	Datte	1,36 ±0,016	0,26±0,0225

Le dosage spectrométrique des phénols totaux révèlent que les extraits de la variété Ghars sont les plus riches en composés phénoliques par rapport à la variété de Deglet Nour. Également, cette variété enregistrée la teneur la plus élevée pour son extrait de folioles du palmier avec une valeur de  $48,98 \pm 0,155$  mg EAG/g MV. Nous notons également que les extraits de folioles du palmier pour les deux variétés marquent une grande teneur par rapport aux autres extraits.

Aussi, on marque pour les deux variétés Ghars et Deglet Nour des teneurs très faibles pour les extraits de dattes. Quand, les extraits de pédicelles et périanthes enregistrés des teneurs proches entre eux pour les deux variétés.

Généralement, les résultats obtenus ont montré que les teneurs en phénols totaux sont très importantes que celles observées pour d'autres espèces et une différence peut enregistrer en fonction de différentes variétés des palmiers dattiers.

La comparaison des teneurs en phénols totaux avec celles rapportées par la bibliographie, on constate que la teneur en phénols totaux de nos extraits est supérieure par rapport à celle trouvée par Telli (2009) au cours de dernier stade (Tmar) de Ghars ( $4,55 \pm 0,39$  mg EAG /10 de poids sec). Des résultats semblables ont été trouvés à l'étude de Sayah (2008) cité par Bendjelloul et Berraghda (2014) dont les teneurs en composés phénoliques de dattes sont de  $263,04 \pm 6,09$  mg/100g et  $195,91 \pm 6,98$  mg/100g pour les variétés Ghars et Deglet-Nour respectivement.

Ainsi, la teneur de notre extrait de dattes, variété Deglet-Nour, est proche à celle Terechine (2010) :  $145,87$  mg EAG/100g pour les dattes de Deglet Nour de la région de Zélfana (extraction sous reflux par le méthanol). Cependant, elle est assez loin de celle de Khali et Selselet-Attou (2007) cité par Ali haimouda (2017) :  $510$  mg EAG/100 g MS pour les dattes de ce cultivar de la région de Biskra.

Une autre étude réalisée par Ben Abbes (2011) a donné des teneurs en phénol totaux :  $0,552$  et  $2,492$  mg EAG/100g des extraits chloroformique et acétate d'éthyle de datte, variété Deglet Nour, respectivement qu'ils sont très faibles par rapport à l'extrait éthanolique :  $381,27$  mg EAG/100g qu'il est un peu proche de nos extraits. De ce fait, il est confirmé notre choix au méthanol comme le meilleur solvant qui permet d'avoir une concentration de phénols totaux plus élevée par rapport aux solvants apolaires.

Les teneurs en phénols totaux de nos extraits de folioles du palme, des deux variétés étudiées, ne présentent pas une similitude avec ceux de Laouini (2014) qui est trouvé une teneur de 179,30 mg EAG/100g pour Deglet Nour et 215,24 mg EAG/100g pour Ghars. De même observation pour une étude conduite aux U.S.A sur Deglet Nour cité par Gouchala (2015) a montré une teneur en phénols totaux plus loin de 661 EAG/100g MF.

Si nous comparons nos extraits des deux variétés Ghars et Deglet-Nour aux autres variétés de la même région de Metlili-Ghardaïa, nous constatons que les extraits étudiés de périanthes, de pédicelles, de folioles du palme et de dattes sont faible et moins riche par rapport les extraits des variétés étudiés par Toumi et Cheriet(2017)telqueAdala, Tazarzaitet Bétekbala. Ce dernier cultivar montre son richesse pour toutes les parties précédemment dites avec des teneurs les suivants : 28,96 mg EAG/g Ms, 23,51 mg EAG/g Ms, 48,04 mg EAG/g Ms et 3,23 mg EAG/g Ms successivement.

Le dosage par l'utilisation de réactif Folin - Ciocalteu a été choisie parce qu'il est simple à mettre en œuvre et qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité et possède une grande longueur d'onde (760nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré (Huang *et al.*, 2005). Néanmoins, la méthode de Folin-Ciocalteu est très sensible et n'indique pas toujours les valeurs précises des teneurs en phénols totaux puisque le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques dont peut réagir avec les acides aminés : tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites ; ce qui provoque après des problèmes d'interfèrent cependant toute évaluation phénolique (Boizot et Charpentier, 2006).

La différence entre les teneurs en phénols totaux de nos extraits et ceux des autres études trouvés à la bibliographie retourne à l'effet d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont:

- Les facteurs climatiques et environnementaux : la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les composés phénoliques (Falleh *et al.*, 2008 ; Harris, 1977).

- Le patrimoine génétique: la concentration des composés phénoliques est très variable d'une espèce à autre et d'une variété à autre et diminue régulièrement durant la maturation ainsi que la période de récolte et le stockage par différentes voies du brunissement (KwonY.-In I *et al.*, 2006; Macheix *et al.*, 1990).
- L'effet du traitement de pré-extraction, les méthodes d'extraction et de la quantification des teneurs en phénols totaux (Ali haimouda, 2017).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium en utilisant comme standard la rutine. La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de composés phénoliques, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe phénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Marfak, 2003 ; Hadi, 2004, Abdel Karim M *et al.*, 2016).

D'après le traçage de la courbe d'étalonnage par mesure d'absorbance de différentes concentrations de la rutine (Annexe 02), on détermine les teneurs en flavonoïdes des différents extraits qui sont exprimées en mg équivalent de rutine/g du matériel végétal utilisé.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux permet d'obtenir valeurs variées entre 0,26 et 15,07 mg équivalent en rutine par gramme de matière végétale. En effet, l'extrait de folioles du palme de la variété Ghars a une forte teneur en flavonoïdes ( $15,07 \pm 0,013$  mg ER/g). Aussi, cette variété enregistré la teneur la plus élevée pour son extrait de périanthes avec une valeur de  $5,78 \pm 0,604$  mg ER/g.

L'analyse des résultats entre les variétés a montre toujours la richesse de variété Ghars en phénols totaux et flavonoïdes par rapport à la variété Deglet-Nour. Toutefois, les extraits de dattes de deux variétés étudiées ont enregistré les plus faibles valeurs: 0,40 mg ER/g et 0,26 mg ER/g pour les variétés Ghars et Deglet-Nour respectivement. Par contre, les extraits de folioles du palme toujours notés les valeurs les plus élevés de teneur en flavonoïdes comparativement aux autres extraits.

A titre de comparaison de notre étude avec la littérature, on peut citer quelques exemples, dont le travail de (Mansouri et *al.* 2005) ont montré des valeurs assez faibles par rapport nos résultats avec une teneur de 0,136 mg EQ/100g de MF pour l'extrait méthanolique de dattes Deglet-Nour de la région de Ghardaïa. Ainsi, ce résultat vient corroborer avec ce de Gourchala (2015) : 5,2 EQ/100g pour les dattes de la variété de Ghars de la même région, qu'il est toujours largement inférieur à ce de notre travail.

En outre, l'étude de Terechine (2010) sur quelque cultivar du palmier dattier de sud-est Algérien a présenté des teneurs plus élevées en flavonoïdes de 58,58 et 66,12 mg d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait méthanolique sec pour les variétés Ghars et Deglet-Nour successivement.

D'un autre côté, une étude réalisée par Adaikaet Ramdani (2015) sur les feuilles de *Phoenix dactylifera* L. a trouvé des teneurs très supérieures 95,93±0,147 mg ER/g. Ce qui montre la richesse de ces variétés de la région de l'Oued en flavonoïde par rapport nos variétés sélectionnées dans cette étude.

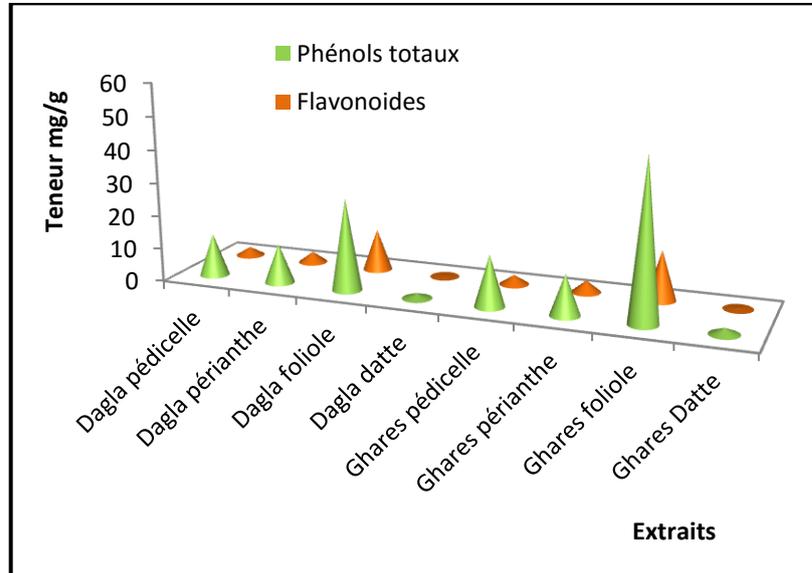
Selon Toumi et Cheriet (2017) qui travaillaient sur les mêmes parties sélectionnées dans notre étude du palmier dattier avec autres variétés de la région de Ghardaïa, nos extraits des variétés Ghars et Deglet-Nour sont faible par rapport les extraits de la variété Bétékbala.

Généralement, pour les pédicelles et les périanthes, il y a une manque d'étude quantitative sur les phénols totaux et les flavonoïdes et aucun résultat n'a été rapporté par d'autres auteurs sur ces deux parties des variétés étudiées pour pouvoir comparer nos résultats.

La comparaison de nos résultats avec ceux de la bibliographie est difficile grâce à l'utilisation de différentes méthodes d'extraction et la diversité des variétés qui caractérise par fois une région seulement, ce qui réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

Il faut toutefois souligner qu'il ne s'agit ni de même solvant ni de même protocoles d'activité, ni de matériel de départ (sec, fraîche), ni de même durée de conservation et de température d'étude ; ce qui pourrait expliquer l'écart observé entre nos résultats et ceux de la bibliographie.

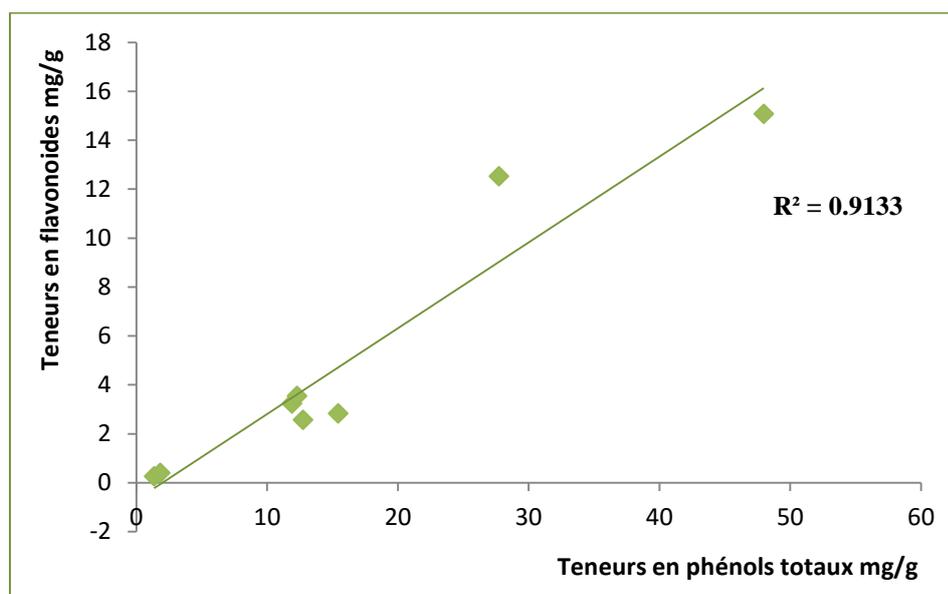
Dans un souci de simplification, nous avons représenté dans l'histogramme qui suit les différentes valeurs du contenu en phénols totaux et flavonoïdes. :



**Figure 10** : Comparaison entre les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des différents extraits.

Selon la figure 10, les résultats représentent la différence de contenu en flavonoïdes entre huit extraits étudiés. Les pourcentages des flavonoïdes compris entre 18 et 31%. Il est clair que les teneurs en flavonoïdes sont inférieures à ceux des phénols totaux et très faibles ce qu'indique que nos extraits sont pauvre en ces composés et le reste pourrait être d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, tanins, stilbènes..) présentes en quantités importantes.

Afin de définir la relation entre la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes, nous avons tracé une courbe portant la variation de la teneur en flavonoïdes en fonction la quantité des phénols totaux (figure 11).



**Figure 11** : Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux.

L'examen statistique de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation linéaire hautement significative 91% entre la teneur des extraits en phénol totaux et en flavonoïdes (figure 11). Ce résultat peut être traduit par le fait que la quantité des flavonoïdes varie proportionnellement avec le contenu en phénols totaux pour tous les extraits.

À la lumière de ces résultats, nous remarquons une bonne corrélation positive entre les quantités des phénols totaux et le contenu flavonoïdique des différents extraits avec un coefficient de corrélation ( $R^2 = 0,913$ ), ce qui peut être traduit par la richesse de nos extraits en flavonoïdes qui constituent une importante proportion du contenu phénoliques. Aussi, cette corrélation a montré l'existence d'une même classe de flavonoïdes dans ces extraits.

### III. Evaluation du pouvoir antioxydant:

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus instructif et même nécessaire (Ozturk et al., 2007).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de prévenir ou ralentir l'oxydation de substrat susceptible d'être oxydé (Pastrej et Priymenko, 2007). Actuellement une grande diversité des méthodes analytiques est disponible pour la détermination de la capacité antioxydante par piégeage de différents radicaux (Benzid et Litim, 2016).

Dans notre étude, l'activité antioxydante des différents extraits du palmier dattier de deux variétés sélectionnées est évaluée par trois méthodes : balayage du radical libre DPPH, balayage du radical ABTS et le pouvoir de réduction ferrique (test FRAP).

### **III.1- Test du DPPH (2,2-Diphényl-2-Picryl Hydrazyl) :**

La première méthode utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des différents extraits du palmier dattier est le test du DPPH (2,2-Diphényl-2-Picryl Hydrazyl) qui a été mise en place par Marsden blois en 1958 (Khenfer et Medjouel, 2016).

La méthode de DPPH est une méthode rapide, simple et non couteuse pour mesurer la capacité antioxydante. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH est largement utilisé pour évaluer la capacité des composés agissant comme des scavengers des radicaux libres ou donateurs d'hydrogènes (Kaanin et *al.*, 2012).

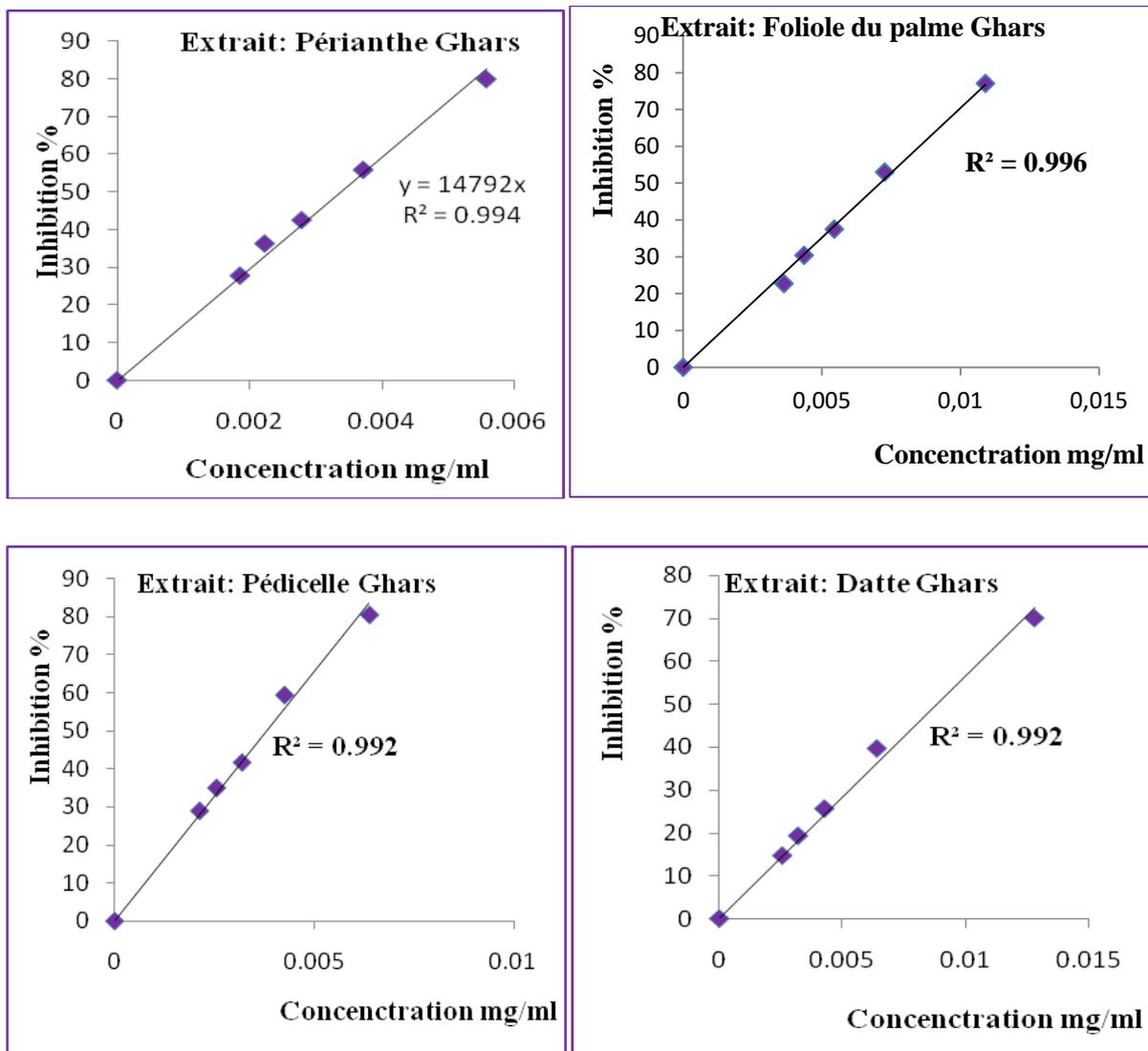
La présence du radical DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm. Cette couleur vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (Burits et Bucar, 2000 ; Laouini, 2014).

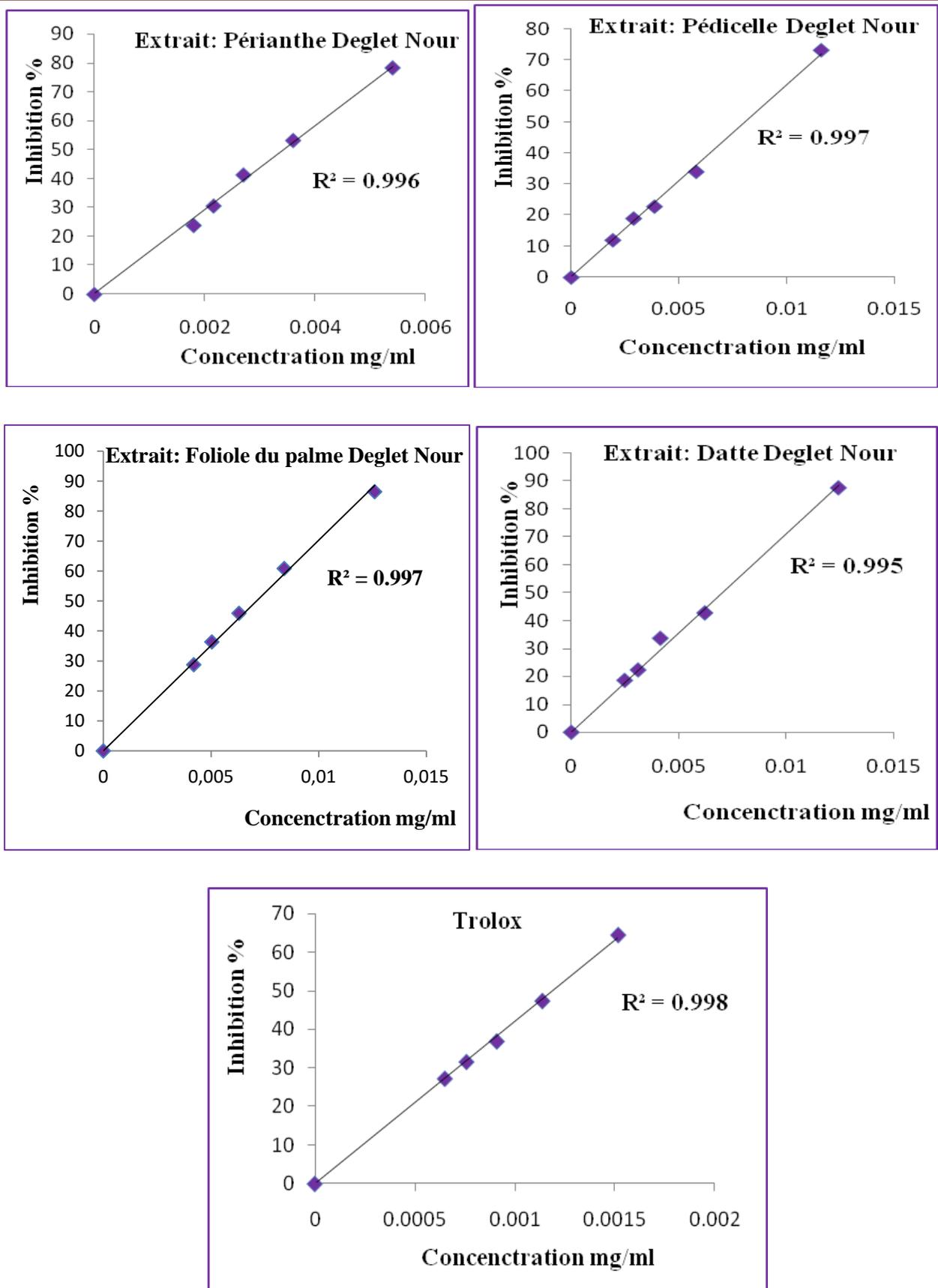
L'activité anti-radicalaire peuvent être exprimée en tant que: pourcentage de l'activité anti-radicalaire ou en pourcentage de DPPH restant ou peuvent également être exprimée en utilisant le paramètre IC<sub>50</sub> (Markowicz Bastos *et al.*, 2007). L'activité anti-radicalaire de nos extraits a été exprimée en IC<sub>50</sub> qui est défini comme la concentration des extraits nécessaire pour provoquer 50% d'inhibition du radical DPPH.

Plusieurs travaux de recherche ont fait appel à certains antioxydants standards connus pour leurs propriétés antioxydantes puissantes comme contrôles positifs. Les plus populaire étant la vitamine C, et le BHA et le Trolox (Liang *etal.*, 2010).

L'antioxydant utilisé comme référence dans cette étude, en basant sur la disponibilité de ce produit, est le Trolox qui a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

Les mesures de densités optiques de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition du DPPH. Les valeurs obtenues de pourcentage d'inhibition I% de chaque extrait, nous ont permis d'établir une régression linéaire entre les différentes concentrations mg/ml des composés phénoliques issus d'une extraction (méthanol/eau) ou l'antioxydant standard choisi et la variation du pourcentage d'inhibition % (Figure12).





**Figure 12 :** Les Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration des phénols totaux des extraits étudiés et de l'antioxydant standard

Les concentrations des antioxydants présents dans les extraits phénoliques, qui sont nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH (IC<sub>50</sub>), sont déterminées graphiquement par la régression linéaire des tracées précédents. De même, nous avons calculé les IC<sub>50</sub> de Trolox afin de les comparer avec ceux des extraits phénoliques; dont la valeur la plus faible est correspondre à l'efficacité la plus élevée. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenues sont résumées dans le tableau 5.

**Tableau 5 :** Les valeurs d'IC<sub>50</sub> en (mg/ml) des différents extraits étudiés et l'antioxydant standard.

Variété	Extraits	IC <sub>50</sub> mg/ml
<b>Ghars</b>	Pédicelle	0,0057 ± 0,00079
	Périanthe	0,0068 ± 0,00010
	Foliole du palme	0,0071 ± 0,0001
	Datte	0,0054 ± 0,0002
<b>Deglet Nour</b>	Pédicelle	0,0065 ± 0,0005
	Périanthe	0,0080 ± 0,0011
	Foliole du palme	0,0071 ± 0,0001
	Datte	0,0074 ± 0,0003
<b>l'antioxydant standard</b>	Trolox	0,0027 ± 0,0001

La capacité antioxydante des différents extraits déterminée à partir les valeurs d'IC<sub>50</sub> qui définit comme la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH°. De tel sorte, plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité est puissante (Boubekri, 2014).

À travers le tableau 05, nous notons les valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits phénoliques des différentes parties de palmier dattier pour les deux variétés Ghars et Deglet Nour qui varient globalement entre 0,0054 mg/ml et 0,0080 mg/ml.

Puisque la valeur de paramètre  $IC_{50}$  est inversement proportionnel à l'activité antioxydante, nos résultats montrent que l'extrait de datte de la variété Ghars est le plus puissant avec une valeur d' $IC_{50}$  plus faibles  $0,0054 \pm 0,0002$  mg/ml par rapport les extraits des autres parties. Tandis que, l'activité la plus faible a été enregistrée pour l'extrait de périanthes de Deglet Nour avec une valeur  $0,0080$  mg/ml.

Pour les extraits de pédicelles de deux variétés; le pouvoir antioxydant le plus fort est présenté par l'extrait de Ghars; par contre l'extrait de Deglet Nour qui a enregistré une valeur d' $IC_{50}$  grande. On remarque ainsi que les deux variétés représentées des valeurs d' $IC_{50}$  égales pour les extraits des folioles du palme, ce qui peut expliquer par la présence des mêmes molécules spécifiques et actifs chez les deux extraits.

A des fins comparatives, les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été comparé à ce obtenus par le Trolox qui prit comme antioxydant de référence. Les extraits phénoliques testés de deux variétés étudiées de palmier dattier s'avèrent moins actifs par rapport à celui déterminé par le Trolox, qui enregistré une valeur d' $IC_{50} = 0,0027 \pm 0,0001$  mg/ml.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire de nos extraits sont en accord avec ceux obtenus par Terechine (2010) qui travaillait sur les extraits de dattes des variétés Ghars et Deglet Nour de la région Oued Mzab. Il a constaté que ces extraits ont montré une activité anti-radicalaire proche à nos résultats avec des valeurs d' $IC_{50}$  égales  $0,006$  mg/ml et  $0,00895$  mg/ml pour les dattes de Ghars et Deglet Nour respectivement.

Une autre étude menée par Ben Abbas (2011) sur les dattes de variété Deglet Nour de la région de Biskra a montré que la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH est égal  $0,000556$  mg/ml lorsque l'extraction a été menée par l'éthanol, cette valeur est nettement inférieure à celle trouvée par notre étude.

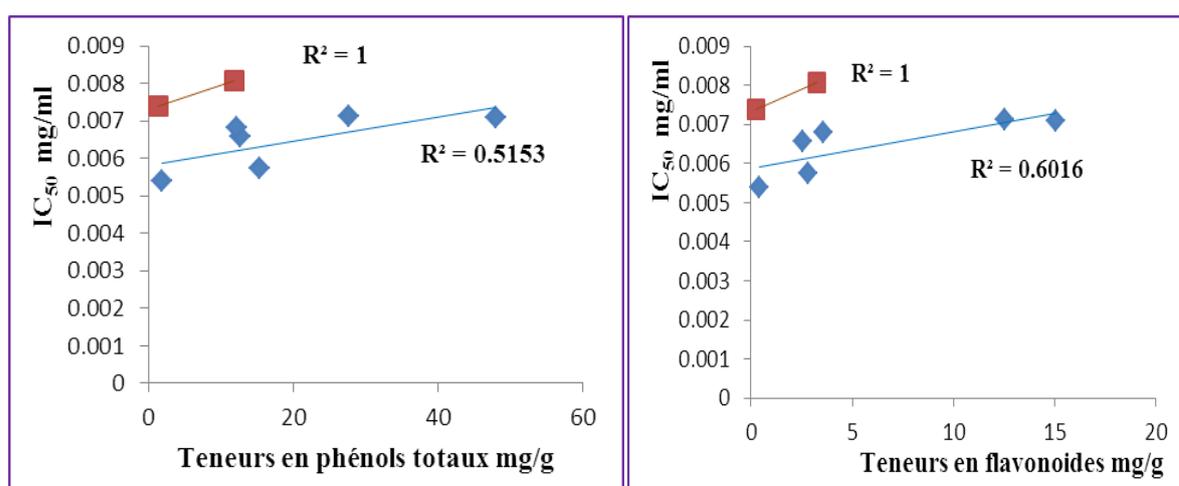
L'activité anti-radicalaire des extraits de deux variétés Ghars et Deglet Nour de la région d'Oued Souf a été investiguée par Laouini (2014). Cette étude a été menée sur les folioles des palmes du palmier dattier, en utilisant le radical libre stable;le DPPH. Ces extraits ont montré un pouvoir antioxydant plus puissant à celui de nos extraits de folioles du palme, dont les valeurs d' $IC_{50}$  de  $2,98 \pm 0,08$   $\mu$ g/ml et  $3,74 \pm 0,07$   $\mu$ g/ml pour les dattes de Ghars et Deglet Nour respectivement.

Cette différence peut être expliquée par le fait qu'elle s'agit de l'action combinée des différents composés à activité anti-radicalaire qu'ils peuvent contenir (les polyphénols glycosides, les peptides, les acides organiques....). Ainsi, on peut dire que la variation de la capacité antioxydante de nos extraits entre eux pourrait être due à la teneur et/ou la présence de certaines molécules potentiellement actives de flavonoïdes et /ou phénoliques dans les extraits.

La méthode de DPPH est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composées phénoliques. Elle est très utilisée car il est rapide, temps d'incubation 30min, facile et non couteux. Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations (Khenfer et Medjouel, 2016).

De plus, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) permettent d'éviter l'auto oxydation des molécules testées. À cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti-radicalaires des extraits végétaux (Yi et *al.*, 2008).

On peut conclure que nos extraits présentent des molécules donneurs des protons pour piéger le radical DPPH, cette capacité est liée à la quantité et la qualité des phénols totaux existant dans les extraits. Pour cette raison, nous avons voulu étudier l'existence d'une corrélation entre les valeurs d'IC<sub>50</sub> et le contenu en phénols totaux, et ce des flavonoïdes.



**Figure13** : Variation des valeurs d'IC<sub>50</sub> du test DPPH en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés.

L'examen de ces résultats (figure 13) permet de mettre en évidence des corrélations linéaires positive entre la teneur des extraits en composés phénoliques et en flavonoïdes avec le pouvoir anti-radicalaire.

À partir des tracés obtenus dans les figures précédentes, on distingue, pour chacune, deux séries à des coefficients de corrélation différents, dont chacune reflète un ensemble des extraits ayant une activité qui varie proportionnellement avec le taux en phénols et en flavonoïdes avec des  $R^2$  supérieur à 0,50 pour la première série et égal à 1 pour la deuxième série. On pense que ce regroupement des extraits en deux séries pourra être dû à la présence d'une même classe de composés phénoliques et flavonoïdes pour chaque groupe mais le pourcentage diffère d'un extrait à autre.

Ces résultats montrent qu'il y a une influence de la concentration en phénols totaux et en flavonoïdes sur l'activité. Toutefois, les extraits qui renferment des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes élevées présentent des pouvoirs antioxydants les plus faibles. Cela, implique qu'il n'y a pas une influence de la concentration sur l'activité antioxydante, mais c'est le type des molécules ou bien la structure chimique qui agissent sur les radicaux libres.

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. La position de la double liaison dans le cycle C ainsi que le nombre et/ou la position des groupements hydroxyles (OH) sont les éléments les plus importants pour expliquer l'augmentation ou la diminution de l'activité anti-radicalaire de nos extraits phénoliques (Marfak A, 2003). L'effet scavenger des flavonoïdes est fait par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle, cette réaction a rendu la molécule radicalaire plus stable (Javanovicetal., 1994).

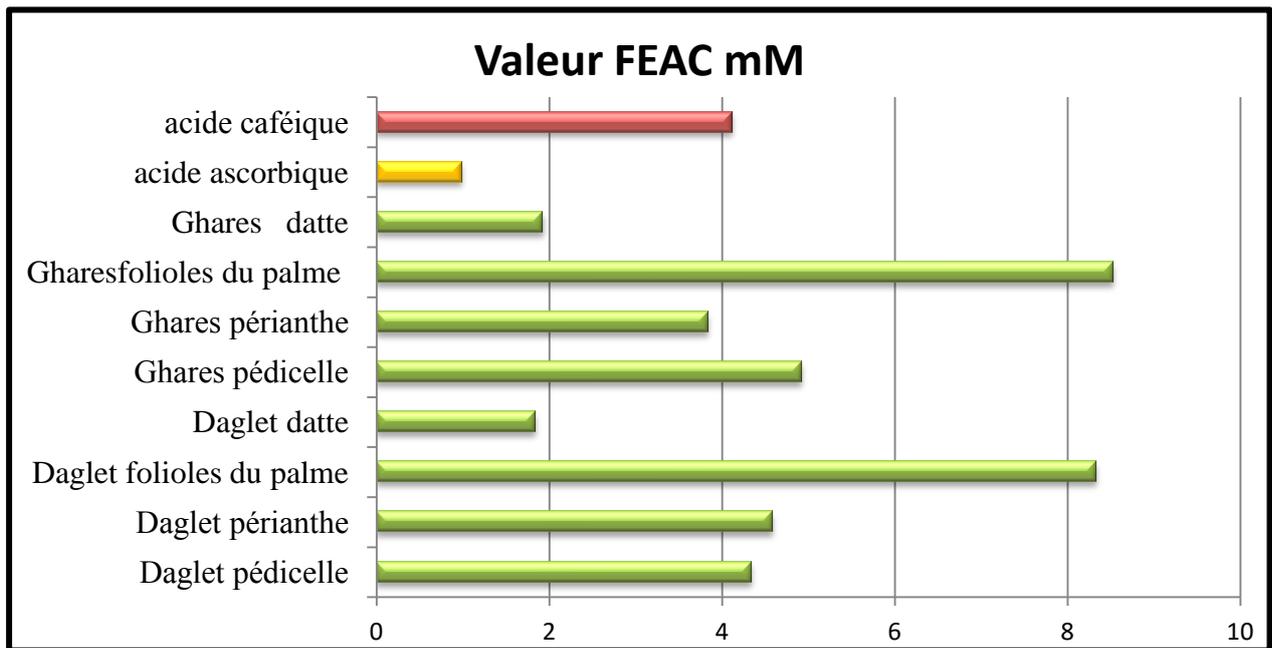
### III.2- Mesure du pouvoir réducteur ferrique (test FRAP) :

La technique de FRAP, est décrite initialement par (Benzie et Strain 1996) et modifiée par Pulido et *al.*, (2000), permet de mesurer le pouvoir réducteur d'un antioxydant qui réagit avec le complexe tripyridyl-triazine ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) et qui produit le tripyridyl-triazine ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) (Tiffany., 2012). Lors de la réduction du complexe ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) en complexe ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ), une coloration bleue intense apparaît. Ce qui permet de la quantifier par spectrophotométrie UV-Visible à une longueur d'onde  $\lambda = 595\text{nm}$  (Tlili, 2015).

La capacité des antioxydants présents dans nos extraits à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) est déterminé à partir de la courbe d'étalonnage des solutions de sulfate de fer ( $\text{FeSO}_4$ ) (annexe 02) et les résultats sont exprimés en valeurs FEAC (Ferrous sulphate Equivalent Antioxydant Capacity) : mmol/l de fer ferreux (mmol/ml Fe (II)).

Ainsi, par l'utilisation de l'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de  $\text{FeSO}_4$ , on peut déterminer le paramètre EC1 (concentration équivalente 1), des extraits et les standards, qu'il est défini comme la concentration de l'antioxydant qui donne une réduction du TPTZ équivalent à 1mM du  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

L'évolution de l'activité antioxydante de nos extraits est comparée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) et l'acide caféique qui sont choisis comme des antioxydants standards. Ces derniers sont traités de la même façon avec les différents extraits. Les résultats des différents extraits et les antioxydants standards ont été déterminés dans l'histogramme (figure 14).



**Figure 14** : Les valeurs de FEAC des extraits phénoliques étudiés et les antioxydants standards.

D'après ce résultat, on peut considérer que les extraits des différentes parties de deux variétés de *Phoenix dactylifera* L. sélectionnées dans cette étude, pédicelles, périanthes, folioles du palme et dattes, possèdent un pouvoir de réduction ferrique moyen par rapport les antioxydants standards.

Nous remarquons ainsi que l'ensemble des valeurs de FEAC varient globalement entre 8,52 et 1,83 mM. L'extrait de folioles du palme est toujours signé les valeurs les plus élevées de : 8,52 mM et 8,33mM pour les variétés Ghars et Deglet Nour respectivement.

Les trois extraits de Ghars, folioles du palme, pédicelles et dattes, sont les plus puissants avec des valeurs de FEAC plus élevées  $8,52 \pm 0,85$  mM,  $4,92 \pm 0,36$ mM et  $1,83 \pm 0,18$ mM respectivement, par rapport la variété Deglet Nour et l'inverse pour l'extrait de périlanthe de Deglet Nour qui est plus élevé pour l'extrait de périanthes de Ghars.

Le résultat de l'activité anti-radicalaire montre que les extraits des folioles du palme de la variété Ghars et Deglet Nour très importante, les deux extraits marqués des valeurs plus élevées à celles d'acide ascorbique par 8 fois (FEAC =  $0,9881 \pm 0,2013$  mM) et pour l'acide caféiques 2 fois (FEAC =  $4,116 \pm 0,524$  mM).

En conséquent, nos résultats montrent clairement que les extraits phénoliques des différentes parties sélectionnées du palmier dattier de deux variétés choisies, possèdent un potentiel antioxydant important comparable avec celui des antioxydants de référence utilisés dans ce test.

Comme mentionné précédemment, la courbe d'étalonnage de  $\text{FeSO}_4$  nous ont servis également à déterminer le paramètre EC1 pour les différents extraits. Ainsi, le paramètre EC1 est inversement proportionnel à l'activité antioxydante ; c'est-à-dire plus la valeur d'EC1 est faible, plus le pouvoir antioxydant des extraits est important (tableau 6).

**Tableau 6 :** Les valeurs d'EC1 des extraits phénoliques étudiés et des antioxydants standards.

Variétés	Extraits	EC1 (mg /ml)
<b>Deglet Nour</b>	<b>Pédicelle</b>	0,29 ± 0,52
	<b>Périanthe</b>	0,25 ± 0,37
	<b>Folioles du palme</b>	0,33 ± 0,63
	<b>Datte</b>	0,37 ± 0,18
<b>Ghars</b>	<b>Pédicelle</b>	0,31 ± 0,36
	<b>Périanthe</b>	0,32 ± 0,40
	<b>Folioles du palme</b>	0,56 ± 0,85
	<b>Datte</b>	0,36 ± 0,25
<b>Antioxydants standards</b>	<b>Acide ascorbique</b>	0,25 ± 0,20
	<b>Acide caféique</b>	0,12 ± 0,52

D'après les résultats obtenus (Tableau 6), nous remarquons que l'ensemble des extraits de deux variétés d'acétate montrent des activités antioxydantes importantes qui se traduit par de faibles valeurs en EC1, qui varient globalement entre 0,25 à 0,56 mg/ml.

L'analyse du résultat de l'activité anti-radicalaire d'une partie à autre montre que les extraits de pédicelles, de périnthés et de dattes pour la variété Deglet Nour sont les plus puissants avec des valeurs d'EC1 inférieur par rapport les extraits de l'autre variété. Egalement, la variété Deglet Nour représentée des meilleures valeurs d'EC1 pour la plus part des extraits.

Ces résultats suggèrent que nos extraits peuvent remplacer les antioxydants de synthèse puisqu'ils présentent un potentiel inhibiteur des radicaux libres comparable ou proche à celui observé pour les antioxydants de référence particulièrement l'acide ascorbique.

En comparaison avec la bibliographie, la capacité de nos extraits à réduire le complexe ferrique en complexe ferreux est plus puissante par rapport à l'étude de Ali Haimoud (2017) sur l'extrait méthanolique de dattes, variétés Deglet Nour et Ghars de la région Oued, qui trouvé des valeurs de FEAC égale  $33,95 \pm 1,2 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$  et  $28,33 \pm 0,66 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$  respectivement.

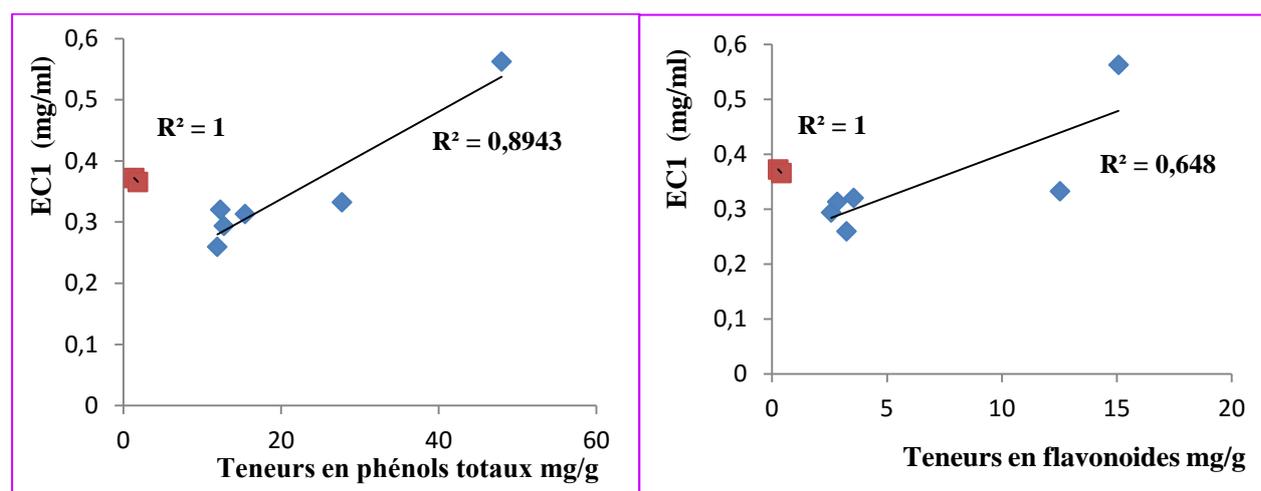
Dhaouadi et *al.* (2011) cité par Ali Haimoud (2017) ont testé le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de la variété Deglet Nour cultivée en Tunisie par la méthode de FRAP, la valeur est de  $382,87 \pm 23,2 \mu\text{g} / 100 \text{ g MF}$ . Une autre étude fait par Laouini (2014) sur les feuilles qui trouvé des valeurs très faible pour les variétés de Ghars et Deglet Nour,  $322,46 \pm 11,37 \mu\text{g/ml}$ ,  $382,13 \pm 2,85 \mu\text{g/ml}$ , respectivement.

Si on comparer les variétés sélectionnées dans cette étude par d'autres variétés (Tazarzait, Béntakbala et Adala) étudiées par Toumi et Cheriet, (2017) de la région de Ghardaïa. Ils ont trouvés que les trois variétés possèdent une activité de réduction ferrique très remarquable. Et des valeurs plus élevées par rapport à nos résultats, varient entre 4,25 à 33,31 mM.

Le puissant pouvoir réducteur des différents constituants du *Phoenix dactylifera* L. de deux variétés sélectionnées est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron et provoque la réduction de complexe ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en complexe ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son potentiel pouvoir antioxydant (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

D'autre part, nous avons tracé les courbes (figure 15) reliant les valeurs d'EC1 avec les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes à fin d'élucider le type de corrélation entre ces paramètres.



**Figure15** : Variation des valeurs d'EC1 du test FRAP en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés.

Cette étude montre un rapport fortement positif entre l'activité antioxydante et le taux des phénols totaux et des flavonoïdes de tous les extraits. En effet, les graphes de la variation d'EC1 en fonction du contenu de composés phénoliques et en flavonoïdes confirme que ces composés interviennent de plus 80 % dans le pouvoir de réduction ferrique parmi lesquels les flavonoïdes contribués par plus 60 %. Ces résultats suggèrent que le pouvoir de réduction ferrique est corrélé avec la présence des composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes.

Ainsi, ces tracés reflètent deux ensemble des extraits ayant une activité antioxydante varie inversement avec le taux en phénols totaux et en flavonoïdes ; c'est-à-dire les extraits qui renferment des teneurs phénoliques et notamment flavonoïdiques élevées présentent des pouvoirs antioxydants les plus faibles. Cela, implique qu'il n'y a pas une influence de la concentration sur l'activité antioxydante, mais c'est le type des molécules qui agit sur les radicaux libres.

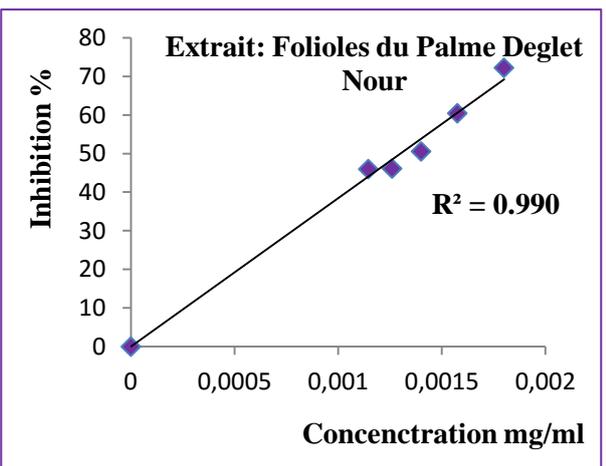
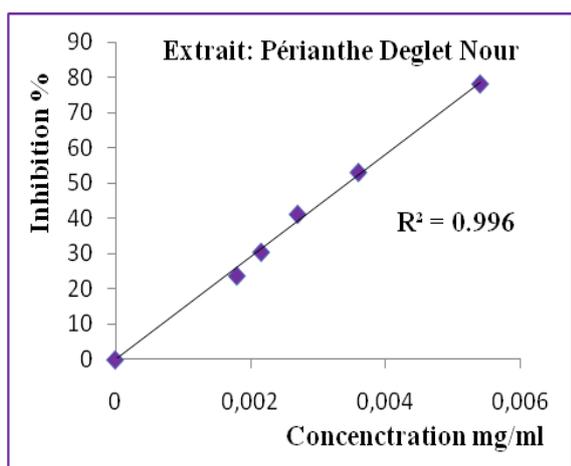
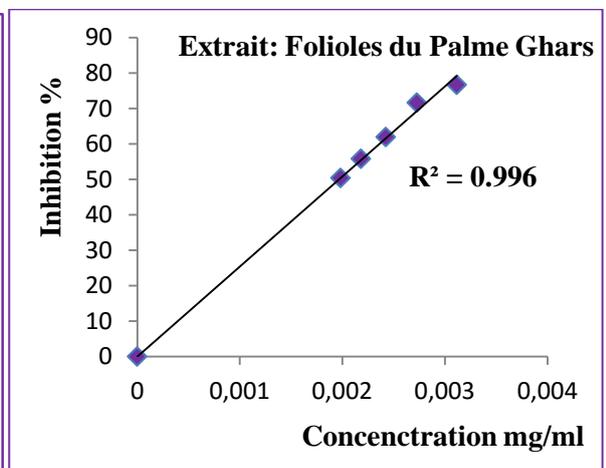
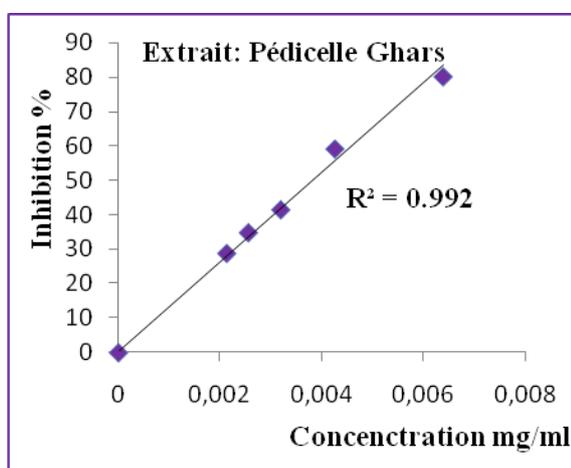
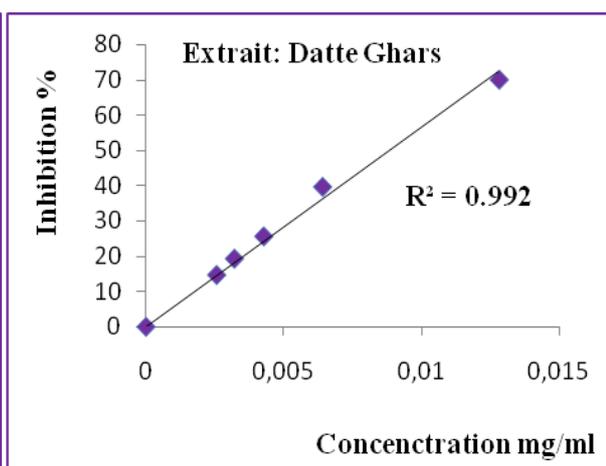
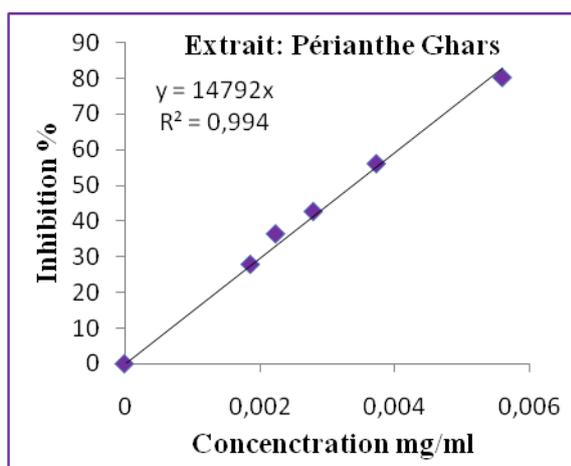
La détermination de la capacité antioxydante de nos extraits a été évaluée par la méthode de pouvoir réducteur du fer (FRAP), les avantages de cette méthode sont qu'elle est simple, rapide, peu coûteuse et robuste (Tiffany C. 2012). Il est universel et peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

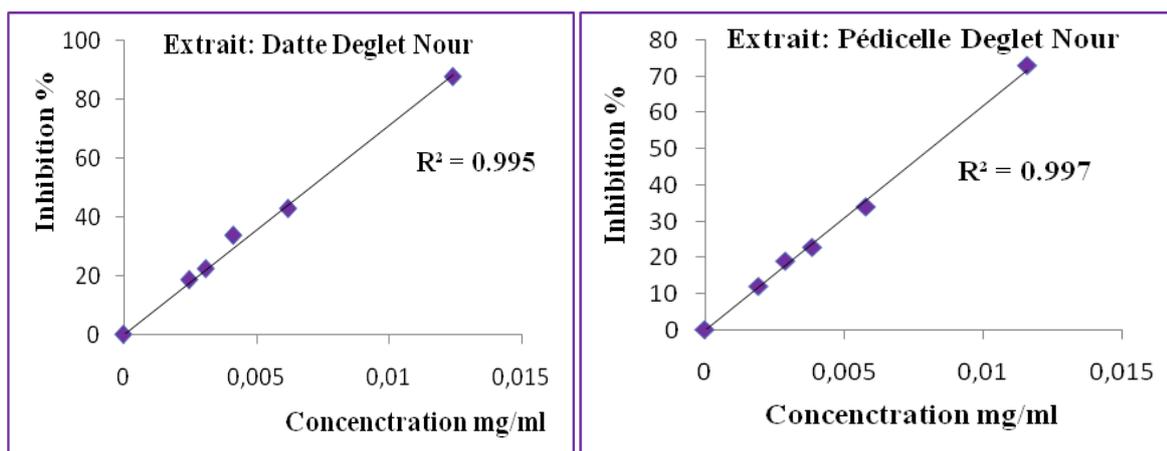
### III.3- Résultats du pouvoir antioxydant par le test ABTS :

Le troisième test pour confirmer la capacité antioxydante de nos extraits, c'est la méthode de balayage du radical (ABTS•+). Cette méthode a été décrite pour la première fois par Miller et Rice-Evans (1993) puis améliorée en 1999 (Khima et Merabti. 2015) est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS•+ (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleu verte en le transformant en ABTS-H+ incolore.

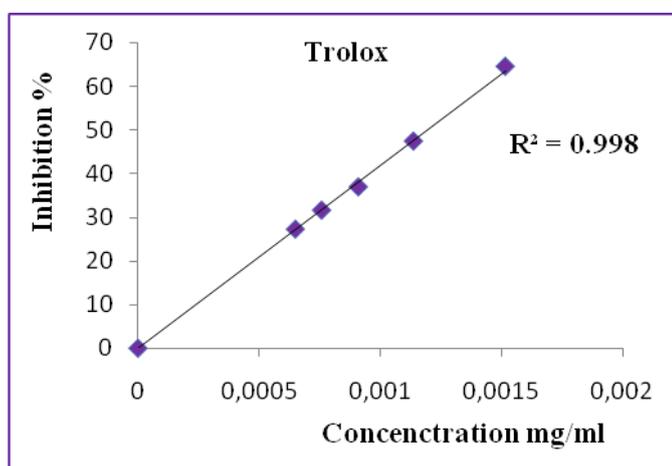
La méthode de balayage du radical (ABTS•+) a été largement appliquée pour fournir un ordre de classement aux antioxydants à l'étude (Tiffany. 2012). Dans cette étude, on a utilisé le Trolox comme standard et étudié leur capacité antioxydante afin de comparer sa valeur d'IC<sub>50</sub> à celle de nos extraits.

L'activité antioxydante des extraits a été mesurée en étudiant la décoloration du milieu réactionnel après avoir obtenu l'absorbance stable de témoin et l'ajout de l'extrait végétal antioxydant. En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition (I%) correspondant. Ainsi, nous avons établi une régression linéaire entre les différentes valeurs de pourcentage d'inhibition I% et les concentrations en phénols totaux de tous les extraits. Les graphes sont représentés dans les (Figure 16) ainsi que la (Figure 17) qui représente la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction des concentrations de l'antioxydant de référence (Trolox). A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les valeurs d'IC<sub>50</sub> de chaque extrait.





**Figure 16** : Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (I%) du radical libre (ABTS.+) en fonction de la concentration des extraits phénoliques.



**Figure 17**: Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition (I%) du radical libre (ABTS.+) en fonction de la concentration en antioxydant standard (Trolox).

L'activité anti-radicalaire des extraits de différentes parties du palmier dattier pour les deux variétés a été déterminée à l'aide du test de l'ABTS afin de préjuger l'extrait le plus actif. Les résultats sont exprimés par le paramètre «  $IC_{50}$  » (mg/ml), sachant que  $IC_{50}$  est inversement proportionnel à l'activité antioxydant (la valeur la plus faible est correspondre à l'efficacité la plus élevée). Les valeurs d' $IC_{50}$  sont calculées graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés précédant. Ces résultats comparés par rapport à ceux obtenus par contrôles positifs le Trolox.

Les valeurs d' $IC_{50}$  obtenues sont résumées dans le tableau 7.

**Tableau 7** : Les valeurs d'IC<sub>50</sub> en (mg/ml) des différents extraits phénoliques étudiés et l'antioxydant standard

Extraits		IC <sub>50</sub> mg/ml
<b>Ghars</b>	Pédicelle	0,0038 ± 0,0003
	Périanthe	0,0033 ± 0,0005
	Folioles du palme	0,0019 ± 0,0001
	Datte	0,0088 ± 0,0001
<b>Deglet Nour</b>	Pédicelle	0,0081 ± 0,0011
	Périanthe	0,0034 ± 0,0004
	Folioles du palme	0,0013 ± 0,0001
	Datte	0,0070 ± 0,0001
<b>Antioxydant standard</b>	Trolox	0,00136 ± 0,00001

D'après le tableau7, on remarque que nos extraits présentent une activité très importante de réduire et piéger le radical (ABTS<sup>•+</sup>), qui se traduit par des faibles valeurs en IC<sub>50</sub>. Ces valeurs sont comparables avec celle de l'antioxydant standard, ce qui suggère que nos extraits peuvent remplacer les antioxydants de synthèse.

L'extrait de folioles du palme Deglet Nour présente une activité anti-radicalaire très importante avec une valeur plus faible d'IC<sub>50</sub>, 0,0013 ± 0,0001mg/ml. Tandis que, l'extrait qui possède une faible activité anti-radicalaire avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale 0,0088 ± 0,0001 mg/ml, c'est l'extrait de dattes variété Ghars.

L'analyse des résultats de balayage du radical (ABTS<sup>•+</sup>) d'une partie à autre montre que l'extrait de pédicelles de la variété Ghars est le plus puissant avec une valeur d'IC<sub>50</sub>de 0,0038 ± 0,0003 mg/ml, par rapport à celui de la deuxième variété qui égale0,0081 ± 0,0011 mg/m, malgré que les deux extraits renferment des quantités en phénols totaux et flavonoïdes voisines.

Ainsi, on remarque que les deux variétés Ghars et Deglet Nour représentées des valeurs d'IC<sub>50</sub> très proche pour les extraits de périanthes : 0,0033 mg/ml et 0,0034 mg/ml respectivement. Ce qui peut expliquer par la présence des mêmes molécules actives chez les deux extraits et qui réagissent de même façon avec le radical (ABTS<sup>+</sup>).

La comparaison de l'activité anti-radicalaire de nos extraits avec celle rapportée par (Laouini, 2014), qui a concerné par l'étude de l'activité antioxydante des extraits de feuilles de trois variétés du palmier dattier Algérien, de la région d'Oued Souf, a montré des valeurs 0,0188 mg/ml 0,0202 mg/ml pour les variétés Ghars et Deglet Nour respectivement. Donc, les extraits de nos variétés sélectionnées possèdent une activité anti-radicalaire très élevés par rapport à celle des variétés de l'Oued. Il faut toutefois souligner qu'il ne s'agit pas de même mode opératoire entre les deux travaux qui peut influencer sur les résultats.

Une étude réalisée par (Toumi et Cheriet, 2017) sur douze extraits de quatre parties du palmier dattier et pour quelques variétés de la région de Ghardaïa (Tazarzait, Adala et Béntakbala), ils ont trouvé des valeurs varient entre 0,0012 à 0,0088mg/ml; ces valeurs sont proche par rapport les valeurs de nos résultats.

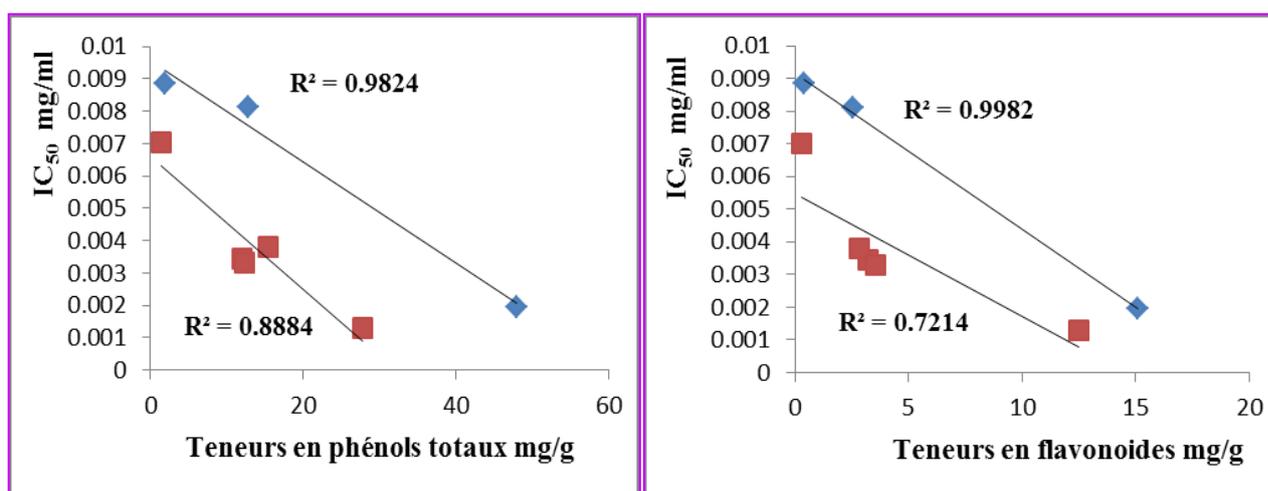
Les valeurs d'IC<sub>50</sub>déterminées pour les différents extraits sont beaucoup plus faibles en comparaison avec celles obtenues lors le test du DPPH<sup>·</sup>, ce qui confirme la grande sensibilité du test d'ABTS. De cet effet, ce test chimique qui sert à évaluer le pouvoir antioxydant vis-à-vis du radical cationique 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS.+), et qui a été mis au point au début des années 1990 par Miller et *al* reste d'actualité (Gao1 et *al.*, 2008; Ali et *al.*, 2008).

Ainsi, ces variations peuvent s'expliquer par les mécanismes impliqués dans les réactions de la réduction des radicaux et la solubilité de nos extraits dans les différents solvants utilisés dans les deux tests, tous ont influé sur leur effet (Bayala, 2014).

À la différence des deux autres tests utilisés dans cette étude, l'ABTS présente l'avantage de sa simplicité, de sa rapidité et de sa solubilité dans les milieux organiques et aqueux ce qui permet donc l'étude de tous les composés phénoliques de propriétés hydrophiles et lipophiles.

De ce fait, nous pouvons expliquer alors l'importante activité antioxydante estimée dans l'étude de nos extraits (Belkheiri, 2010). Le principal inconvénient de cette méthode est que les radicaux libres générés ne sont pas stables durant de longues périodes (Tiffany, 2012).

Les résultats obtenus suggèrent que nos extraits montrent une bonne activité antioxydante grâce à leurs richesses en composés phénoliques. Ces derniers offrent un potentiel antioxydant très élevé du fait la présence de nombreux groupement hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres (Sokol-Letowska, 2007). A cet effet, nous avons voulu chercher une corrélation entre les valeurs d'IC<sub>50</sub> et les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes.



**Figure 18 :** Variation des valeurs d'IC<sub>50</sub> du test ABTS en fonction des teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits étudiés.

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence des corrélations linéaires positive entre la teneur des extraits en composés phénoliques et en flavonoïdes avec le pouvoir anti-radicalaire. En effet, la corrélation entre l'activité antioxydante et le contenu phénoliques est supérieure à 88% pour les deux séries, et de même pour les flavonoïdes dont nous avons noté des corrélations supérieures à 70%.

Cette corrélation a permis de conclure que le potentiel pouvoir de balayer le radical d'ABTS<sup>•+</sup> par nos extraits est directement liée avec la présence des composés phénoliques qu'ils ont la capacité de donner un électron / hydrogène pour appairer l'électron célibataire d'ABTS<sup>•+</sup>.

On remarque ainsi que l'augmentation des taux en composés phénoliques ou bien en flavonoïdes soit inversement proportionnelle aux valeurs d'IC<sub>50</sub>. Cela, implique qu'il y a une influence de la concentration sur l'activité antioxydante de telle sorte que l'activité antioxydante est augmentée avec la teneur en ces composés.

La présence de deux séries reflète la présence des ensembles des extraits possédant les mêmes tendances en pouvoir antioxydant. On pense que ce regroupement des extraits en deux séries pourra être due au même mode d'action des composés phénoliques vis-à-vis le test utilisé ou bien à la présence d'une même classe de ces substances dans chaque série des extraits avec des différentes teneurs. On suggère également, que l'entassement des extraits dans chaque nuage de points pourra être interprété par le fait que ces extraits renferment des composés phénoliques présentant le même effet sur le balayage des radicaux libres.

En raison de la complexité des matériaux antioxydants et leur mécanisme d'action, il est évident qu'aucune méthode de test unique n'est capable de fournir une image complète du profil d'un échantillon antioxydant étudié et ne permet pas à aperçu tous les modes d'actions des composés; puisque chaque molécule a un mécanisme d'action spécifique selon sa conformation structural, alors une combinaison de différentes méthodes est nécessaire.

*Conclusion  
Générale*

Le palmier dattier est une plante plus utile à l'homme, pas seulement comme source de nutrition mais aussi parce qu'il contient des composés bio actifs qui ont été utilisés récemment dans de nombreux domaines.

Ce travail a porté sur quelques parties du *Phoenix dactylifera* L. de deux variétés de dattes de consistance différente, molle et demi molle (Ghars et Deglet Nour) récoltées dans la région de Metlili – Ghardaïa. Nous nous sommes intéressés principalement, à la détermination par spectrophotométrie les teneurs de certaines molécules bioactives telles que les phénols totaux et les flavonoïdes; après l'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits des parties sélectionnées pour cette étude qui sont les périanthes, les pédicelles, les folioles du palme et les dattes.

Afin d'extraire ces composants, nous avons utilisé la méthode d'extraction par macération dans un mélange hydroalcoolique : méthanol/eau (8/2 V/V) pour obtenir l'extrait brut, les résultats de rendement d'extraction étaient variés entre 17% et 35%.

L'analyse quantitative des extraits de différentes parties du *Phoenix dactylifera* L. est représentée par le dosage spectral de deux substances bioactives: les phénols totaux et les flavonoïdes révélant que les différentes parties de *Phoenix dactylifera* L. est relativement riche en ces composés; avec des teneurs qui varient de  $1,36 \pm 0,0165$  à  $47,98 \pm 0,1555$  milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale. En effet, les extraits de la variété Ghars sont plus riches en composés phénoliques par rapport à ceux de l'autre variété, dont l'extrait de folioles du palme enregistré la teneur la plus élevée.

En ce qui concerne les flavonoïdes, les teneurs de ces composés pour les différents extraits étudiés varient entre  $15,07 \pm 0,013$  et  $0,26 \pm 0,0225$  mg ER/g Mv. Toutefois, l'extrait de folioles du palme de la variété Ghars montré son richesse en flavonoïdes par une grande teneur de  $9,07 \pm 0,008$  mg ER /g Mv.

La variation de la teneur en flavonoïdes en fonction la quantité des phénols totaux de l'ensemble des extraits montré une bonne corrélation positive entre les quantités des phénols totaux et le contenu flavonoïdique des différents extraits avec un coefficient de corrélation ( $R_2 = 0,91$ ), ce qui peut être traduit par la richesse de nos extraits en flavonoïdes qui constituent une importante proportion du contenu phénoliques.

La deuxième partie de ce travail a été étudiée la capacité antioxydante des composés bio actifs de nos extraits par trois tests chimiques: le test du **DPPH** (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); le test du complexe de **FRAP** (Ferric Reducing/Antioxidant Power), et le test d'**ABTS** (2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid).

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits de périanthes, de pédicelles, de palmes et de dattes qui sont éprouvés par le test chimique DPPH *in vitro*, montrés une activité anti-radicalaire pour l'ensemble des extraits, cette dernière reste significativement inférieure à celle du control positif Trolox qui présente une valeur d'IC<sub>50</sub> égale  $0,0027 \pm 0,0001$  mg/ml. L'extrait de dattes variété Ghars a montré l'activité la plus importante avec IC<sub>50</sub>égale  $0,0054 \pm 0,0002$ mg/ml.

L'analyse des résultats de test FRAP a révélé que les différents extraits de deux variétés sélectionnées dans cette étude ont un pouvoir de réduction ferrique important et proche à celui des antioxydants standards (acide caféique, acide ascorbique), avec des valeurs de FEAC varie de : 1,83et 8,52 mM.

Des corrélations positives entre l'activité antioxydante et la teneur en phénols totaux et le contenu flavonoïdique qu'ont été établies dans les deux tests DPPH et FRAP. Ainsi, les tracés de la variation des valeurs EC1 et IC<sub>50</sub>en fonction le contenu en phénols totaux et flavonoïdes, reflètent deux ensemble des extraits ayant une activité antioxydante varie inversement avec le taux en phénols totaux et en flavonoïdes. Cela, implique qu'il n'y a pas une influence de la concentration sur l'activité antioxydante, mais c'est le type des molécules ou bien la structure chimique qui agissent sur les radicaux libres.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits et d'antioxydant commercial pris comme référence (le Trolox) par le test chimique ABTS•+*in vitro* a décelé des activités antioxydantes très intéressantes chez les extraits étudiés et comparable à celle déterminée pour le Trolox avec des valeurs d'IC<sub>50</sub>comprises entre 0,0013 et 0,0088 mg/ml.

Le graphe de la variation d'IC<sub>50</sub> en fonction du contenu en composés phénoliques confirme que ces composés interviennent de plus 80 % dans la réponse inhibitrice du radical (ABTS•+) parmi lesquels les flavonoïdes contribués par plus 70 %.

L'ensemble de ce travail a permis d'étudier de quelques parties de *Phoenix dactylifera* L. de la région de Metlili – Ghardaïa, en estimant le pouvoir antioxydant de certaines leurs substances bioactif, phénols totaux et les flavonoïdes. Les résultats confirment que le palmier dattier est une source potentielle riche en composés phénoliques qui peut utiliser contre le stress oxydatif.

En fin, ce travail ne constitue qu'une première étape dans la recherche à des antioxydants naturels et notamment qui extraits du palmier dattier. Pour la suite, il serait intéressant de compléter ce travail pour la détermination des molécules d'origine naturel responsables à l'activité antioxydante, et par l'étude de chaque extrait séparément puis isoler et identifier les différents composés qui existent pour une meilleure compréhension du mode d'action des dérivés phénoliques. Aussi, serait très souhaitable d'élargir le panel des activités antioxydantes in vitro et in vivo et pourquoi pas d'autres tests biologiques: anti tumorale, anti cancéreux, anti inflammatoire, anti diabétique, anti coagulant et autres.

Pour mieux valoriser les palmiers dattiers, nous estimons intéressant d'élargir l'éventail des variétés locales, d'établir leurs profils phénoliques, de purifier leurs constituants et d'étudier leurs structures en utilisant des techniques plus performantes (HPLC, RMN...).

L'identification des principes actifs pourra conduire à améliorer leurs pouvoirs biologiques en procédant à des modifications structurales de ces molécules (substitutions, hémi synthèse .....etc).

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives et notamment des différentes parties du palmier dattier. Des études complémentaires, précises et approfondies restent nécessaires pour pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques :

- ✓ **Absi, R. (2013).** Analyse de la diversité variétale du Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera* L.): Cas des Ziban (Région de Sidi Okba). Mémoire de Magister en sciences agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra-Alger.
- ✓ **Adaika, M et Ramdani, B. (2015)** Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par ultrasondes feuilles de *phoenix dactylifera* L .Mémoire de master. Université EchahidHamma Lakhdar El Oued-Algérie
- ✓ **Ali Haimoud, S. (2017).** Etude phytochimique et rôles biologiques des variétés de *Phoenix dactylifera* (datte) de l'Algérie, thèse diplôme de Doctorat, Université HassibaBenbouali de Chlef-Alger.
- ✓ **Amedjoudj N. E. H., Bounab, R.et Menzer, M. (2017).** Les polyphénols de l'extrait n-butanol d'une plante médicinale de la famille des Rosacées: Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité de la doxorubicine, Mémoire de Master Spécialité : Toxicologie, Université des Frères Mentouri Constantine-Alger.
- ✓ **Badereddine, M. et Moussaoui, H. (2014).** Etude phytochimique comparative des extraits de feuilles de Phoenix dactylifera .L obtenue par différents méthodes, Mémoire de Master Génie Chimique, Université d'El-Oued-Alger.
- ✓ **Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Journal of Food and Agricultural Research, p 83 -94
- ✓ **Bayala, B. (2014).** Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, thèse de doctorat, Université Blaise Pascal- France.
- ✓ **Belguidoum, M. (2012).** Une approche phytochimique pour différencierdeux espèces de genre *Zygophyllum*, Mémoire Master Académique, UniversitéKasdiMerbah Ouargla-Alger.
- ✓ **Belkheiri, N. (2010).** Dérives phénoliques à activités antiathérogènes, Thèse; Université Toulouse III - Paul Sabatier, 244 pp.
- ✓ **Ben Abbes, F. (2011).** Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera* L. ». mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas-Sétif-Algerie.
- ✓ **Benarous, K. (2009).** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: a-amylase, trypsine et lipase, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique, université Amar Telidji Laghouat-Alger.

- ✓ **Bendjelloul, N. et Berraghda, A. (2014).** Caractérisations biochimiques des trois variétés de dattes (Ghars, Déklet-Nour et Dékla-Beida) mémoire de licence Université KasdiMerbah, Ouargla-Alger
- ✓ **Benzid, A et Litim, N. (2016)** Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum L.* cultivées dans plusieurs régions d'Algérie. Mémoire de Master. Université KasdiMerbah-Ouargla Algérie.
- ✓ **Bettayeb H et Mefissel F.(2015).***Etude Phytochimique Des Extraits Bruts Des Dattes (Ghars, Deglet-Nour, Degla-Beida)* Mémoire de Master Academique, Université KasdiMerbah Ouargla-Alger.
- ✓ **Bondet, V., Brand-Williams, W. and Berset, C. (1997).** Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method, *Lebensm.-Wiss. Technol*, 609–615 pp. DPPH
- ✓ **Boubekri, C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques, Thèse présentée en vue de l'obtention Du diplôme de Doctorat en sciences Spécialité Chimie, Université Mohamed Khider – Biskra-alger.
- ✓ **Bouddrar, C. Bouzid, L. et Nait larbi, H. (1997).** Etude des fractions minérale et glucidique de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Mémoire d'Ingénieur, INA. El -Harrach. Alger 60 p.
- ✓ **Bougandoura, N. et Bendimerad N (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq." Nature et Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques 9: 14 -19.
- ✓ **Bouguedoura, N. (1991).** Connaissance de la morphogénèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. Thèse. Doct. USTHB. Alger, p. 201.
- ✓ **Bounaga, N. (1991).** Groupe palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) rappels biologiques et problèmes physiologiques. In *physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides* de Riedacker A., Dreyer E., Pafadnam C., Joly H. et Bory G. Edition John Libbey, Eurotext, p. 476.
- ✓ **Bruneton, J. (2009)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Edition Lavoisier. Paris. 1234p
- ✓ **Burits, M. et Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapeutic Research*, 14; 323-328.

- ✓ **Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M. and Arnao, M. B. (1998).**An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochemical Analysis* 9, 196-202
- ✓ **Chen, I., Chang, H., Yang, H. and Chen, G. (2004).** Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs : a fast approach with ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*, 29-33 pp
- ✓ **Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J.M. et Stocker, P. (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48; 2599-2606.
- ✓ **Djoudi, I. (2013).** Contribution à l'identification et à la caractérisation de quelques accessions du palmier dattier (*Phoenix Dactylifera.l*) dans la région de Biskra, Mémoire de Magister En Sciences Agronomiques, Université Mohamed Kheider Biskra-Alger.
- ✓ **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. et Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372 -379.
- ✓ **Goudable, J. et Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, volume 11, p 115-20.
- ✓ **Gourchala, F. (2015).** Caractérisation physicochimique, phytochimique et biochimique de cinq variétés de dattes d'Algérie, *Phoenix dactylifera L. (Deglet noor, Ghares, H'mira, Tamesrit et Tinissine)*, effets de leur ingestion sur certains paramètres biologiques (*Glycémie, profil lipidique, index glycémique et pression artérielle*). Thèse doctorat université Badji Mokhtar – Annaba-Algérie
- ✓ **Grandjean, D. (2005).** Prévention nutritionnelle du stress oxydatif cellulaire. Antioxydants: mode ou réalité biologique, Article de *Le nouveau praticien vétérinaire*. pp61-65 ; p145
- ✓ **Gross, J., Habero, O. et Ikan, R. (1983).** The carotenoid pigments of the date. *Scientia Horticulturae*. 20(3) :251-257.
- ✓ **Huang, D., Ou B., Prior, R. L. (2005).** The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 53:1841-1856
- ✓ **Jiri, S., Marketa, R., Olga, K., Petr, S., Jaromir, H., Vojtech A., Libuse, T., Ladislav, H., Miroslava, B., Josef, Z., Ivo, P. and Rene Kize, k. (2010).** Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages, *Article, Molecules* 2010, 15, 8618-8640

- ✓ **Kaanin, G. et Harfi, L. (2012).**Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique del'huile du noyau de datte : essai d'incorporation dans unemargarine de table,Mémoire d'ingénieur d'état, Université Abderrahmane MIRA de Béjaia-Alger.
- ✓ **Kanatt, S., Arjun, K. et Arun, S. (2011).** Antioxidant and antimicrobial activity of legume hulls.Food Research International 44: 3182–3187.
- ✓ **Khenfer, S. et Medjouel, M. (2016).** Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien.DiplômeMaster Academique. UniversiteKasdiMerbah Ouargla-Alger.
- ✓ **Khima, S. et Merabti, C. (2015)** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Calaminthaofficinalis et Abies numidica, mémoire de master Université A. MIRA – Bejaia- Algérie
- ✓ **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, oran other way for nutrition in respiratory diseases, Nutrition clinique et métabolique. 20:165-177.
- ✓ **Krishnaiah, D.,Sarbatly, R. andNithyanandam, R. (2010).**A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. Food and bioproducts processing, article in press
- ✓ **Kroyer, G. (2004).** Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. Innovative Food Science and Emerging Technologies 5: 101–105.
- ✓ **Kühnau, J. (1976).** The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition, *World Rev. Nutr. Diet.* 24 : 117-191
- ✓ **Kwon Y. I., Vattem, D. A., and Shetty, K. (2006).** Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. Asia Pacific J Clin Nutr, volume 15 (1):107-118.
- ✓ **Laouini, S. E. (2014)** Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse Doctorat Université Mohamed Khider Biskra- Algérie
- ✓ **Lecheheb, F. (2010).** Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. mémoire de magister. Université de M'hamedBougraBoumerdés-algerie.
- ✓ **Li, H., Cheng, K.W., Wong C., Fan K.W., Chen, F. and Jiang, Y. (2007)** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food chemistry, 102 ; 771-776.
- ✓ **Liang-Liang, Z ; Yi- Ming, L ; Hai-Chao ; Zhou ; Shu-Dong ; Wei and Jia-Hong C (2010).** Condensed tannins from Mangrove Species Kandeliacandel and Rhizophora mangle and Their antioxidant activity. Journal of Molecules, volume 15, p 420-431.

- ✓ **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. and Kefalas, P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*) *Article in Food Chemistry* 89(3) : 411-420.
- ✓ **Mansouri, A., Guendez, E., Eugene, K et Panagiotis, K. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89: 411–420
- ✓ **Marfak, A. (2003).** Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p
- ✓ **Markowicz-Bastos, D. H., Saldanha, L., Catharino, R., Sawaya, A C H F; Cunha, I., Carvalho, P.andEberlin, M. (2007).** Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté( *Ilexparaguariensis* ) and Green Tea ( *Cameliasinensis*) Extracts. *Molecules*. 12: 423-432
- ✓ **Medjoujda, O. (2012).** Méthodes d'études d'activité des antioxydants des plantes médicinales, mémoire de licence Université d'Agadir –Maroc.
- ✓ **Munier, P., Vilardebo, A., Laville, E., Navilie, R. et Trocellier, E. (1973).** Le palmier Dattier, Maisonneuve &Larose 11, rue Victor-Cousin, 11 PARIS (V<sup>e</sup>) p 19-211
- ✓ **Nezam, A. et Ali, L. (1982).** Study on the pigment contents of some varieties of date. *J. Res .for .Agric .Water Res. (Iraq)*, 2: 1.
- ✓ **Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M.and Topcu, G. (2007)** Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.*103: 623 -630
- ✓ **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. et Defraigne, J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydantePhysiological action of antioxidantdefences. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 233–239.
- ✓ **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 pp.
- ✓ **Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouysegu, L. (2011).** Plant polyphenols : Chemicalproperties, biologicalactivities, and synthesis. *AngewandteChemie International Edition*. 50(3) : 586-621
- ✓ **Shahin Sharif, A., Naresh, K., Abhinav, L., Angad, S., Hallihosur, S., Abhishek, S., Utpal, B. (2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Journal of Food Research International*, volume 41, 1–15.

- ✓ **Sokol-Letowska, A., Oszmiansk, J. andwojdylo, A. (2007).**Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. Food chemistry, 103:853-859.
- ✓ **Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of Food Engineering, 81: 200-208.
- ✓ **Terichin, H. S. (2010).** Etudes ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelque cultivars de palmier dattier *Phoenix dactylifera L* du Sud-est algérien. mémoire de Magister. Université d'Oron-Algérie.
- ✓ **Tiffany, T. (2012)** Le potentiel antioxydant de l'alimentation tel qu'estimé par le score ORAC : une comparaison des apports des personnes âgées avec démence du type Alzheimer avec ceux des témoins sans problèmes cognitifs. Mémoire l'obtention du grade. Université de Montréal-canada
- ✓ **Tlili, M. (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergulariatomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Mémoire de Magister. Université KasdiMerbah-Ouargla Algérie
- ✓ **Toumi, R. et Cheriet, B. (2017).** Évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de trois variétés de *Phoenix dactylifera L*. (Adala, Béntakbala et Tazarzait) Mémoire de Master Université de Ghardaïa-Algérie.
- ✓ **Yi Yan, Y., Liang, YandZeng B. (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of PericarpiumCitriReticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. LWT, 41: 597-603
- ✓ **Yu, J., Ahmedna, M. and Goktepe, I. (2004).** Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. Food Chemistry. Pp 199–206.

# *Annexes*

## Annexe 1

Les douze espèces du genre *Phoenix* selon **Chevalier A.**

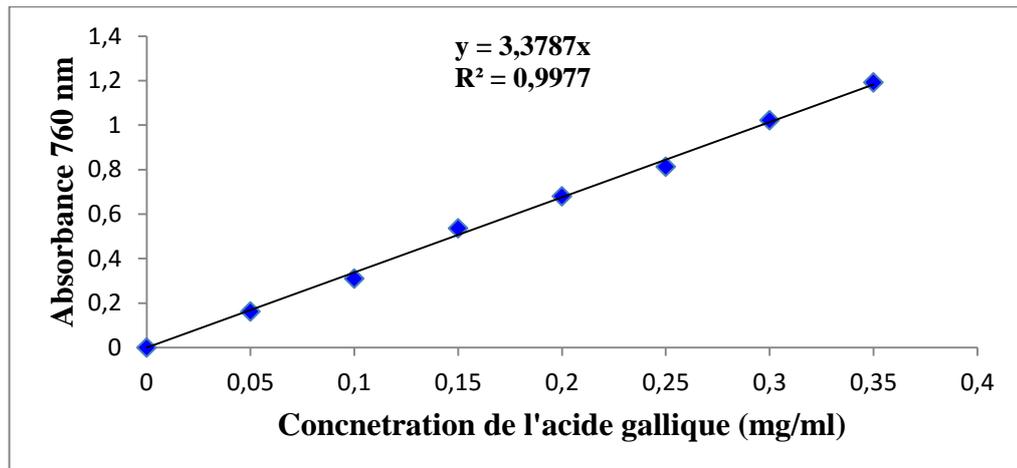
Phoenix	Aire de dispersion
<i>Phoenix dactylifera</i> L	Europe méditerranéenne, Afrique. Asie occidentale. Introduit en Amérique, en Australie.
<i>Phoenix atlantica</i>	Afrique occidentale, Iles Canaries.
<i>Phoenix canariensis</i>	L'archipel du Cap-Vert.
<i>Phoenix reclinata</i>	Afrique tropical, Yemen (Asie).
<i>Phoenix sylvestris</i>	Inde, Pakistan occidental.
<i>Phoenix humilis</i>	Inde, Birmanie, Cochinchine.
<i>Phoenix hanceana</i>	Chine méridionale, Formose.
<i>Phoenix roebelinii</i>	Ceylan, Tonkin, Annam, Laos, Thaïlande.
<i>Phoenix farinifera</i>	Inde, Ceylan, Annam.
<i>Phoenix rupicola</i>	Inde (Sikkim).
<i>Phoenix accaulis</i>	Bengale.
<i>Phoenix paludosa</i>	Bengale, Tenasherim, Andaman, Nikobaren, Thaïlande, Cochinchine, Sumatra.

Caractéristiques morphologiques et physico-chimique de la datte des principales variétés en Algérie (Absi, 2013).

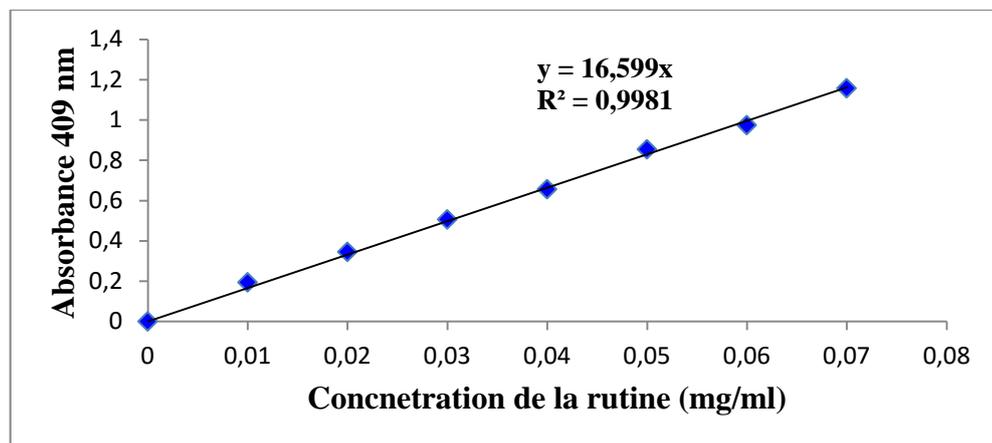
Variété	Consistance et forme	Couleur au stade (B'ser-maturité)	Longueur / diamètre (cm)	Maturation	Poids moyen (g)	Sucres totaux (%) MS
<i>Deglet Nour</i> (1)	Demi-molle, fuselée à ovoïde	Roux claire jaunâtres	6/1,8	Octobre - Novembre.	12	71,37
<i>Ghars</i> (2)	Très molle	Jaune-brun foncé	4/1,8	Août-Septembre	9	85,28
<i>MechDegla</i> (1)	Sèche, sub cylindrique	Jaune orangé	3,5/1,8	Octobre	6,5	80,07
<i>DeglaBeidha</i> (2)	Sèche, fuselée	Jaune-marron clair à beige	4,5/2	Octobre	7	74
<i>Hamraye</i> (2)	Molle-ovoïdale	Rouge-noire	4/1,6	Octobre	8	9,02

		avec des reflets rougeâtres				
<i>Tafezouine(1)</i>	Molle, cylindrique, allongée	Jaune-ambrée marron	4,2/2	Octobre	10,6	56,90
<i>Tanteboucht(1)</i>	Molle, arrondie	Abricot-ambrée	3	Octobre	10	56,20
<i>Arrehti(1)</i>	Demi-molle, oblongue	Jaune orangé, brun	4/2	Octobre	12	66,70
<i>BentKbala(1)</i>	Molle, ovoïde	Jaune-ambrée	-	Août- Octobre	-	10,75

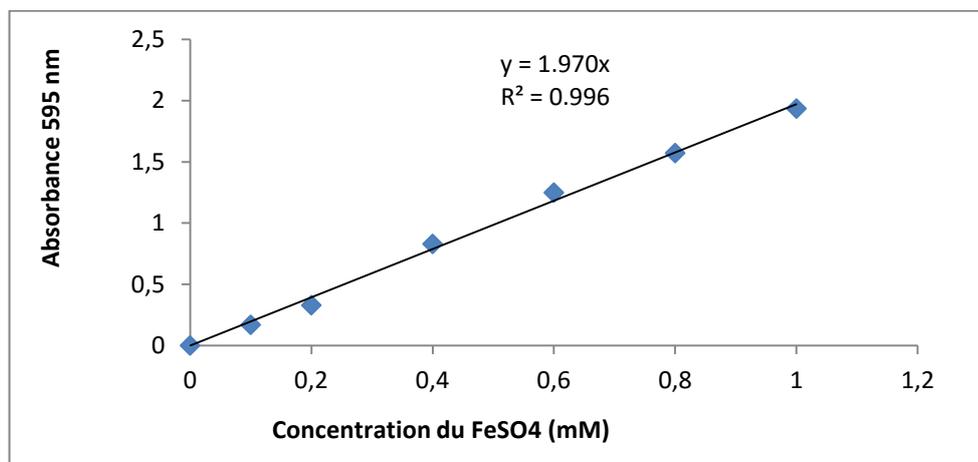
## Annexe 2



Courbe d'étalonnage d'acide gallique



Courbe d'étalonnage de la rutine

Courbe d'étalonnage de FeSO<sub>4</sub>

