



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Hamma Lakhdar. El Oued

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Toxicologie

Présenté par :

Maamoun Mohammed Yassine

Maamoun khadidja

Thème :

**Valorisation de potentiel antioxydante
des différents noyaux de dattes du Sahara algérienne**

Promoteur : Dr. Ahmed Ghania

Mr. Khelef Yahia..... PrésidentUniversité d'El-Oued, Algérie.

Mr. Tlili Mohamed Laid..... ExamineurUniversité d'El-Oued, Algérie.

Année universitaire 2020/2021

Remerciement

Nous tenons à remercier Mr. Ahmed Ghania d'avoir accepté de nous encadrer et nous diriger pour réaliser ce travail de recherche.

Nous remercions également Dr. Abderrahmen Rahmani et Dr. Imed Kashi du Centre de recherche en Biotechnologie (C.R.Bt), Constantine, Algerie.

Nos remerciement également aux membres de jury Mr. Khelef Yahya et Mr. Tlili Mohamed Laid qui ont accepté d'examiner ce travail.



Dédicaces

*Je dédie ce travail à toute ma famille et mes amis
pour leur soutien et leur encouragement tout au long
de ma vie.*

Mohammed Yassine



Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents

Mon mari qui n'arrête pas de me soutenir

Mon cher fils Yazan

Mon cher frère.

Mes chères sœurs,

Enfin à tous qui me sont chers

et la famille de mon mari.

Résumé

Ce travail est une contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-méthanoliques de noyaux de trois variétés de dattes (Ghars, Deglet Nour et Mech degla), en utilisant deux méthodes à savoir : le piégeage du radical DPPH et la réduction des ions cuivre (CUPRAC). Ainsi, l'étude de la teneur en flavonoïde des trois extraits.

Les résultats ont montré que les extraits (Ext.1, Ext.2 et Ext.3) ayant une activité antioxydante significative en piégeant les radicaux libres en comparaisent avec les standards (BHT, BHA). Ces résultats s'est avérée être fortement corrélée avec les niveaux de flavonoïde.

Nous avons fait aussi une évaluation de l'activité anti-cholinestérase (anti-Alzheimer) qui a montré une activité moins active que le contrôle positif galanthamine.

En conclusion, notre étude a montré que les noyaux de dattes sont très riches en différents composés métaboliques et présente une bonne activité antioxydante qui pourrait être utilisé dans le domaine thérapeutique.

Mots clés : activité antioxydante, activité anti-cholinestérase, activité biologique, teneur en flavonoïdes, noyaux de dattes.

Summary

This work is a contribution to the evaluation of the antioxidant activity of hydro-methanolic extracts of kernels of three varieties of dates (Ghars, Deglet Nour and Mech degla), using two methods namely: the trapping of the DPPH radical and the reduction of copper ions (CUPRAC). Thus, the study of the flavonoid content of the three extracts.

The results showed that the extracts (Ext.1, Ext.2 and Ext.3) having significant antioxidant activity by scavenging free radicals compared with the standards (BHT, BHA). These results were found to be strongly correlated with flavonoid levels.

We also did an evaluation of anti-cholinesterase (anti-Alzheimer's) activity which showed less active activity than the positive control galanthamine.

In conclusion, our study showed that date stones are very rich in different metabolic compounds and have good antioxidant activity that could be used in the therapeutic field.

Key words: antioxidant activity, anti-cholinesterase activity, biological activity, flavonoid content, date kernels.

المخلص

يساهم هذا العمل في تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الميثانولية المائية لنواة ثلاثة أصناف من التمر (غرس ، دقلة نور ومش دقلة) ، باستخدام طريقتين هما: حبس جذر DPPH وتقليل النحاس أيونات (كوبراك). وهكذا تم دراسة محتوى الفلافونويد للمستخلصات الثلاثة.

أظهرت النتائج أن المستخلصات (1 ، 2 و 3) لها نشاط مضاد للأكسدة معنوي عن طريق كسح الجذور الحرة مقارنة بالمعايير (BHT BHA) تم العثور على هذه النتائج لتكون مرتبطة بقوة بمستويات الفلافونويد. أجرينا أيضاً تقييماً للنشاط المضاد للكولينستراز (مضاد للزهايمر) والذي أظهر نشاطاً أقل فاعلية من عنصر التحكم الإيجابي جالانثامين.

في الختام ، أظهرت دراستنا أن نواة التمر غنية جداً بمركبات التمثيل الغذائي المختلفة ولها نشاط جيد كمضاد للأكسدة يمكن استخدامه في المجال العلاجي.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للكولينستريز ، نشاط بيولوجي ، محتوى الفلافونويد ، نواة التمر.

Liste des abréviations

%: Pourcent.

AC: Absorbance de contrôle.

ACI: Acetylthiocholine iodide.

ADN: Acide Dèsoxyribonucléique.

AE: Absorbance de l'extrait.

AL(NO₃): Nitrate d'aluminium.

BHA: Butylhydroxyanisole.

BHT: Butylhydroxytoluène.

CH₃COOK: Potassium D'aluminium .

CM: Centimètre.

CRB: Centre de Recherche Biotechnologie .

DPPH: Diphenylpicryl β hydrozyle.

FUO: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

H₂O: L'eau.

HPLC: Chromatographie liquide haute pression .

KH: Potassium hydride.

O₂: Oxygène moléculaire.

OH: Hydroxide.

Och₃: methoxy group.

UV: Ultraviole.

µl: Microlitre.

Sommaire

Sommaire

1- Généralités sur le Palmier dattier	17
Description de la datte.....	17
Classification des dattes selon la consistance	18
Production dattiers dans le monde :.....	18
En Algérie :	18
Composition biochimique de la datte	19
Composition biochimique de la partie comestible (Pulpe)	19
Eau	20
Les sucres :	21
Les protéines	21
Les lipides	22
Les éléments minéraux :.....	22
Les fibres.....	22
Les Vitamines :	23
Les composés phénoliques :	23
Substances aromatiques :.....	24
Les acides organiques :.....	24
Les pigments :	24
Composition biochimique de la partie non comestible "Noyau "	24
Transformation et utilisation des noyaux de dattes.....	25
Alimentation les animaux.....	25
Composition cosmétique	26
Fabrication de charbon actif	26
Boisson des noyaux de dattes (Café)	26
Extraction des antibiotiques	26
Fabrication des clous à base des noyaux des dattes pour la fixation des os après une fracture	26
1_ les composés phénoliques.....	28
1. Classification des composés phénoliques	28
1.1. Les acides phénoliques	28
1.2. Les flavonoïdes.....	29
1.3. Les tanins	30
1.4. Les stilbènes	31
1.5. Les lignanes.....	31
1.6. Les Phytostérols et les phytostanols	32

Sommaire

1.7. Les saponines	32
1.8. Autres Phytoestrogènes	33
2. Méthodes d'extraction et de dosage des composés phénoliques	33
2.1. L'extraction	33
2.2. La quantification.....	34
2_ Le rôle biologique des composés phénoliques.....	34
1. Rôle physiologique.....	34
2. Rôle technologique.....	35
3. Rôle biologique, pharmacologique et thérapeutique.....	36
3.1. L'activité antioxydante	37
3.2. L'activité antibactérienne	39
3.3. L'activité antifongique	40
Matériel	42
Matériel végétal.....	42
Réactifs chimiques et solvants.....	43
Appareils utilisés :	43
Méthode	45
Préparation des extraits de noyaux	45
Rendements des extraits	45
Protocoles.....	46
Piégeage du radical libre DPPH	47
CUPRAC.....	48
Total Flavonoïdes	46
Activité anticholinestérase.....	49
Détermination des IC ₅₀ des extraits et des standards.....	53
Méthode pour calculé IC ₅₀ :.....	53
DPPH	55
CUPRAC.....	56
Teneur des extraits en flavonoïdes :	53
Anticholinestérase (Anti-Alzheimer).....	57

Liste des figures

Figure 1 : Coupe longitudinale d'une datte.	18
Figure 2 : Les principales Wilayas qui représentent 82% le patrimoine phoenicicole national	19
Figure 3 : Composition de la datte	20
Figure 4 : Structure de l'acide benzoïque(1) et caféique(2).....	29
Figure 5 : Structure de l'acide gallique(1) et ellagique(2)	29
Figure 6 : Squelette de base des sous classes de flavonoïdes	30
Figure 7: Structures chimiques de quelques stilbènes	31
Figure 8 : Structure des saponines du ginseng.....	33
Figure 9 Aspect de datte, noyaux et poudre de variété de Ghars	42
Figure 10 : Aspect de datte, noyaux et poudre de variété de Deglet Nour	42
Figure 11 : Aspect de datte, noyaux et poudre de variété de Mech Degla	43
Figure 12 : Appareils utilisés pour la réalisation des protocoles expérimentaux.	67
Figure 13 : Les trois extraits de noyaux.....	67
Figure 14 : Le sonicateur à tige	68
Figure 15 : courbe d'étalonnage de la gamme quercétine.....	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fche (Biskra),en % du poids frais	20
Tableau 2 : Teneur en sucres de quelques variétés de datte algériennes	21
Tableau 3 : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour	22
Tableau 4 : Teneur en éléments minéraux de trois variétés de dattes dans la région de Biskra (mg/100g de la matière sèche)	22
Tableau 5 : Teneur moyenne en vitamines (mg/100g) de la datte	23
Tableau 6 : Teneur en composés phénoliques de quelques variétés algériennes	24
Tableau 7 : Composition biochimique des noyaux de dattes	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة
Tableau 8: la composition en éléments minéraux des noyaux de la datte	25
Tableau 9 : Activités biologiques des composés phénoliques	36
Tableau 10 : Solvants utilisés et leurs formules.	43
Tableau 11 : Réactifs utilisés et leurs formules.	43
Tableau 12 : Solvant d'extraction de l'extrait Hydro-Méthanolique	45
Tableau 13 : Pourcentage d'inhibition et l' IC ₅₀ pour DPPH.	55
Tableau 14 : Pourcentage d'inhibition et l' IC ₅₀ pour CUPRAC.	56
Tableau 15 : Absorbance de la gamme quercitrine	54
Tableau 16 : Absorbance des trois extraits et contrôle par lecture microplaque et valeurs de S et P	54
Tableau 17 : Moyennes et l'écart type des trois extraits.	54
Tableau 18 : Valeurs des teneurs en flavonoïdes.	55
Tableau 19 : Pourcentage d'inhibition et l' IC ₅₀ pour Anticholinesterase.	57

Introduction Générale

INTRODUCTION GENERALE

Les dattes sont le fruit des palmiers dattiers, elles sont produites dans les zones arides et semi arides. La date est considérée comme un aliment très important chez les habitants des régions sahariennes.

L'Algérie est le 7^{ème} pays du monde (FAO, 2004) dans la production de dattes avec environ 13 millions de palmiers et 440.000 tonnes de datte (Hannachi et al., 1998 ; MA/DSAEE, 2002)

Ce fruit (la datte) est exploité sous différentes formes telle que la pâte de datte (ESPIARD, 2002), le jus de datte (SIBOUKEUR, 1997), la confiture (ESPIARD, 2002) ...

Plusieurs travaux et recherches scientifiques ont été menés pour déterminer les différents composés de la datte (les sucres, les lipides, les protéines, les fibres, les vitamines et les minéraux)

Dans ce travail de recherche, nous allons nous intéresser à l'étude d'une partie qui représente 15% du poids total de la datte qui est « le noyau ». Nous allons valoriser le potentiel antioxydant des différents noyaux de dattes du Sahara algérienne.

Pour ce faire, ce travail sera subdivisé en deux parties : l'une théorique et l'autre expérimentale

La première partie consiste à une synthèse bibliographique qui donne des généralités sur les palmiers dattiers, la composition de la datte et la transformation et l'utilisation de leurs noyaux.

La deuxième partie sera consacrée à l'étude expérimentale des différents noyaux de dattes, leur activité antioxydante et anti-cholinestérase

Chapitre 1 :
Généralités sur le Palmier
dattier

1- Généralités sur le Palmier dattier

Le palmier dattier : *Phoenix dactylifera* L., provient du mot « Phoenix » qui signifie dattier chez les phéniciens, et *dactylifera* dérive du terme grec « *dactulos* » signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit (Djerbi, 1994).

C'est une espèce arborescente connue pour son adaptation aux conditions climatiques trop sévères des régions chaudes et sèches (Bouguederi et al., 1994).

En général, les palmeraies algériennes sont localisées au Nord-Est du Sahara au niveau des oasis où les conditions hydriques et thermiques sont favorables (Ghazi et sahraoui, 2005).

Le palmier dattier commence à produire les fruits à un âge moyen de cinq année, et continue la production avec un taux de 400-600 kg/arbre/an pour plus de 60 ans (Imade et al., 1995)

Description de la datte

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

Selon Espiard (2002) La partie comestible de la datte est constituée de :

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

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Leur couleur va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs ambre, rouge, brune plus ou moins foncée (Djerbi, 1994).Les dattes sont généralement de forme allongée, oblongue ou ovoïde, mais on rencontre également des dattes sphériques.

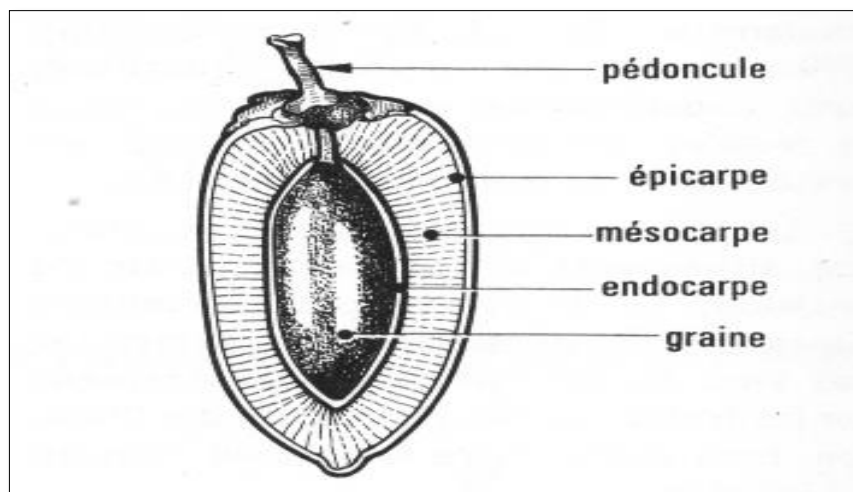


Figure 2 : Coupe longitudinale d'une datte (Richarde, 1972).

Classification des dattes selon la consistance

Les dattes sont regroupées en trois catégories suivant leur consistance ;

cette classification, établie par les américains est valable pour les variétés d'Algérie :

- Dattes molles de texture fibreuse et aqueuse ; Ghars, Hamraia, Litima.....etc.
- Dattes demi-molles : Deglet Nour, Arehti...etc.
- Dattes sèches ou dures qui durcissent sur l'arbre et ont une texture farineuse ; telle que Mech-Degla , DeglaBeida...etc.

Production dattiers dans le monde :

La production mondiale de dattes se situe entre 5,5 et 6 million de tonnes/ an, C'est le cinquième fruit en importance des régions arides et semi-arides, après les agrumes, la mangue, la banane et l'ananas. Il est le premier parmi les fruits séchés avant les raisins, les figues et les pruneaux On en produit dans 34 pays, les plus importants étant l'Egypte, l'Irak, l'Arabie Saoudite, les Émirat Arabes Unis, l'Irak, le Pakistan et Algérie

En Algérie :

En Algérie, la production de la datte est répartie sur de nombreuses Wilayas, Quelquesunes sont réputées telles que Biskra, El-Oued et Ghardaïa (Zeddour; 2011)

Quatre principales Wilayas représentent 82 % du patrimoine phoenicicole national : Biskra 21 %, Adrar 22 %, El-Oued 23 % et Ouargla 16 % (Figure 2)

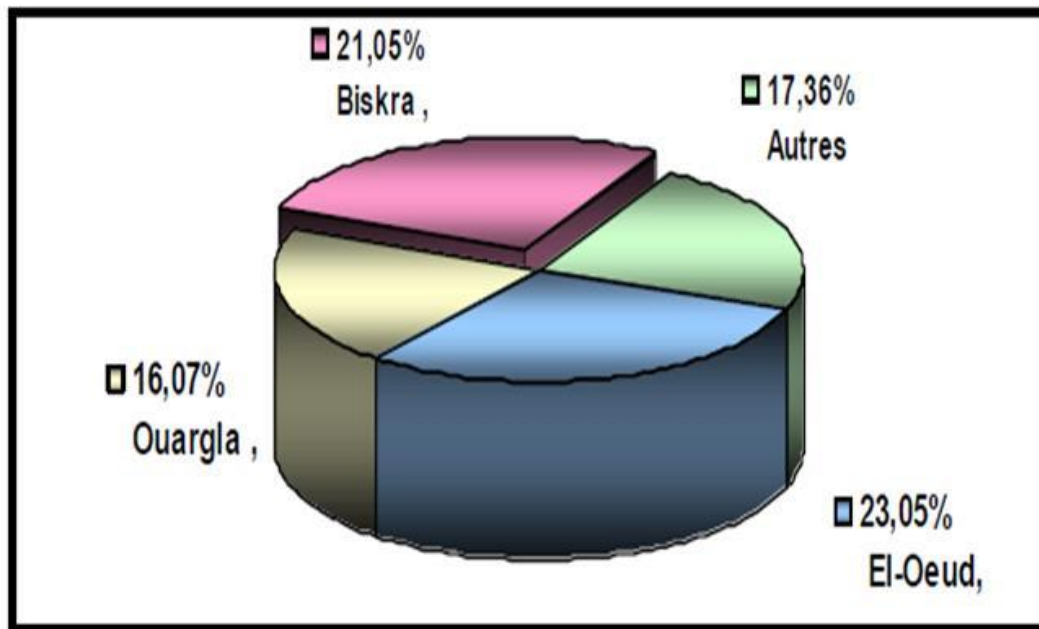


Figure 3 : Les principales Wilayas qui représentent 82% le patrimoine phoenicicole national

Composition biochimique de la datte

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

Composition biochimique de la partie comestible (Pulpe)

La pulpe de la datte présente une proportion de 80 à 95% du poids total de la datte fraîche, selon les variétés et les conditions pédoclimatiques. Elle est caractérisée par sa forte teneur en eau et en sucres (Maatallah, 1970)

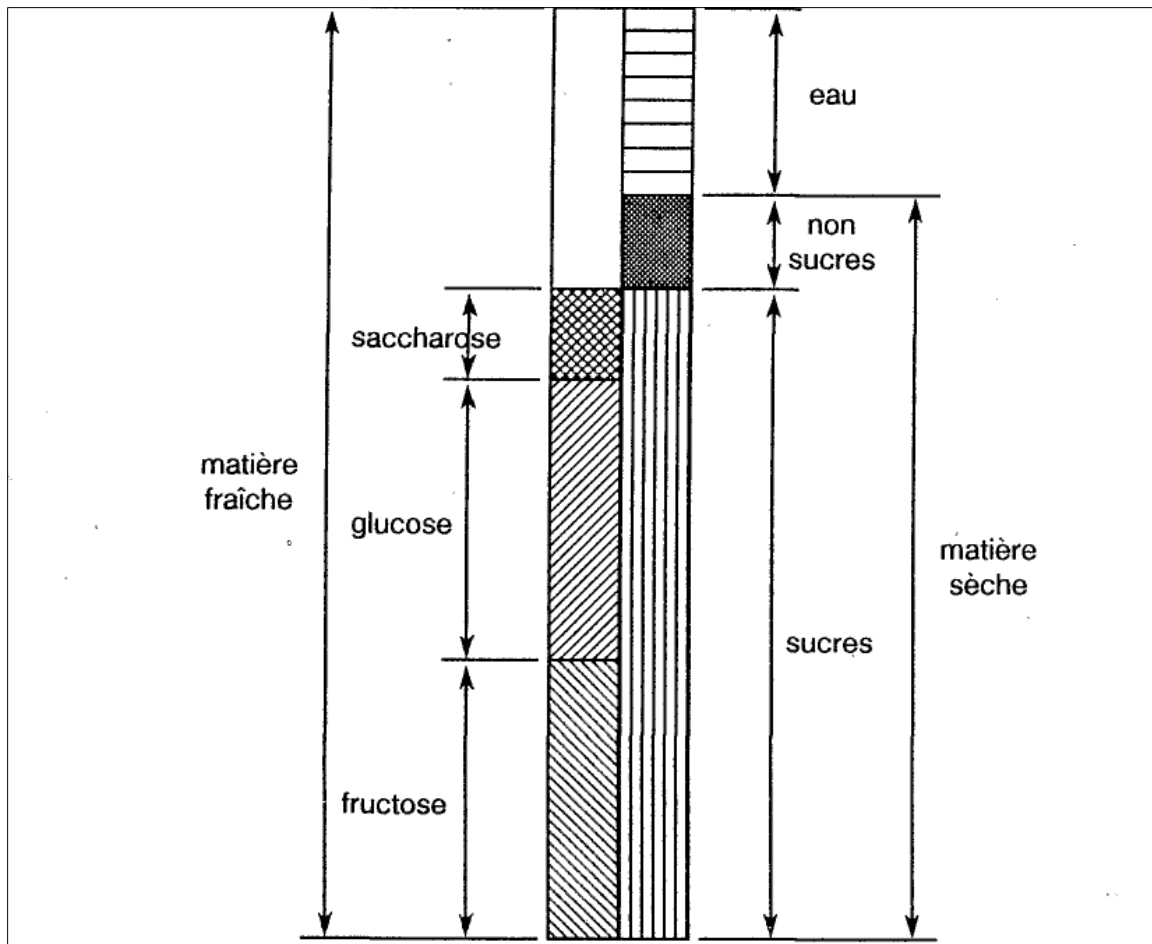


Figure 4 : Composition de la datte (Estanove, 1990)

Eau

La teneur en eau est en fonction des variétés, stade de maturation et du climat (Maatallah, 1970). Selon Booi et al., 1992, l'humidité décroît des stades verts aux stades murs. D'une manière générale, la teneur moyenne en eau des dattes varie de 10 à 40% du poids frais, ceci la classe dans les aliments à humidité intermédiaire (Estanove, 1990).

variétés	consistance	Teneur en eau
Deglet-Nour	Demi-molle	22.6
Ghars	molle	25.4
Mech-Degla	sèche	13.7

Tableau 1 : Teneur en eau de quelques variétés de dattes de la région Fche (Biskra), en % du poids frais (Khenfar, 2004)

Les sucres :

La teneur en sucres totaux est très variable. Elle dépend de la variété et du climat et de la consistance de la datte. Elle varie entre 40 à 80% du poids de la pulpe fraîche et entre

44% et 88% du poids de la pulpe fraîche (AL-shahib et Marshall, 2003)

Ils sont composés essentiellement de sucres majeurs tels que : saccharose, glucose, fructose, et des sucres mineurs, comme le galactose, la xylose et l'arabinose

Selon Khatab et al, (1983) in Djoudi, (2013) ; les variétés sèches de dattes renferment des teneurs élevées en saccharose. Par contre, les variétés molles sont très riches en sucres réducteurs, les variétés demi molles renferment, autant de saccharose que de sucres réducteurs.

Le tableau ci-dessous montre la teneur en sucres dans différentes variétés, signalons une grande variabilité des teneurs pour le saccharose (entre 4,36 et 42,30% de matière sèche) et les sucres réducteurs (entre 27,10 et 57,40% de matière sèche).

Consistance	Variétés	Sucres totaux	Sucres réducteurs	Saccharose
Molle	"Ghars"	62,40	57,40	5,00
	"Itima "	56,90	47,70	8,74
	"Loulou"	49,30	41,90	7,00
	"Tanslit"	44,66	40,10	4,36
Demi-molle	"Deglet-Nour"	71,37	27,10	42,00
	"Madani"	76,00	44,11	32,02
	"Tichtat"	76,13	45,45	30,68
	"Bouarous"	60,90	44,40	13,90
Sèche	"Mech-degla"	72,00	28,00	42,30
	"Degla-Baidha"	67,00	37,00	28,60
	"Bouhless"	76,00	46,34	28,20
	"Haloua"	88,00	47,74	38,10

Source (Belguedj, 1996)

Tableau 2 : Teneur en sucres de quelques variétés de datte algériennes

Les protéines

La pulpe de datte ne renferme qu'une faible quantité de protéines variant entre 0.38 à 2.5% selon Noui (2001). D'autres part Al-Shahib et Marshall (2003) notent une quantité plus élevée allant de : 2.3% à 5.6 % du poids de la pulpe fraîche de la datte.

Favier et al.(1995) ont noté la présence dans la datte des acides aminés :

Isoleucine , leucine, lysine, méthionine, cystine , phénylalanine , tyrosine, thréonine, tryptophane, valine, arginine, histidine, alanine, acide aspartique, acide glutamique, glycolcolle, proline et sérine

Les lipides

La teneur de la pulpe de datte en lipides est très faible soit 1.25% du poids frais (Benflis, 2006). Cependant la quantité signalée par Al-Shahib et Marshall(2003) est encore plus faible (0.2-0.5%)

Acide gras	Teneur en pourcentage de matière grasse
Acide linoléique(C18 : 3)	12.30
Acide linoléique (C18 : 2)	11.47
Acide oléique(C18 : 1)	10.74
Acide stéarique(C18 : 0)	10.47
Acide palmitique(C16 : 0)	07.89
Acide myristique(C14 : 0)	08.66

Tableau 3 : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour (Yahiaoui, 1998).

Les éléments minéraux :

La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux essentiellement le Potassium, le Magnésium, le Phosphore et le Calcium (Acouréne et al, 2001). Le taux des cendres est compris entre 1,10 à 3,69% (Tableau 04)

Les éléments minéraux	Teneur en éléments minéraux (mg/100g de la matière sèche)		
	Daglat-Nour	Ghars	Mech-degla
Potassium	523,70	386,30	453
Magnésium	92,20	90,40	101,40
Phosphore	45	35	50,20
Calcium	52,40	24,40	44,70
Sodium	18,11	13,40	12,44

Source (Mebarki, 2000)

Tableau 4 : Teneur en éléments minéraux de trois variétés de dattes dans la région de Biskra (mg/100g de la matière sèche)

Les fibres

Les dattes sont riches en fibres alimentaires. La teneur en fibres dans la datte mûre est comprise entre 2-6% du poids de la chair (Al-Ogaidi, 1987, cité par Benflis)

Selon Benchabane (1996), les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine.

La proportion de cellulose diminue chez les variétés de haute qualité comme Deglet-Nour, et peut augmenter jusqu'à 10% chez certaines variétés communes particulièrement farineuses (Munier, 1973).

La paroi cellulaire de la datte mûre est pauvre en pectines (3% MS de datte), se sont en fait des pectines hautement méthylées (Benchabane et al., 2000).

La lignine est un composé important de la paroi de la datte, elle intervient avec les pectines, cellulose et hémicellulose dans la modification de la fermeté de la datte au cours de la maturation.

Les Vitamines :

En général, la datte ne constitue pas une source importante de vitamines notamment liposolubles, la fraction vitaminique se caractérise par des teneurs appréciables en vitamines de groupe C et de groupe B (Atef et Nadif, 1997 in Daas, 2009). Ces derniers sont des précurseurs immédiats des coenzymes indispensables à presque toutes les cellules vivantes où elles jouent un rôle primordial (Vilkas, 1993 in Djouab, 2007) (Tableau 5).

Vitamines	Teneur moyenne en mg pour 100 g
Vitamine C	2,4 – 17,5
Thiamine (B1)	0,08 – 0,13
Riboflavine (B2)	0,13 - 0,17
Niacine (B3)	0,0004 – 0,0007
Vitamine A	0,001
Acide Folique (B9)	0,004 – 0,007
Acide Nicotinique	0,002

Source (Yousef et Kado, 1982)

Tableau 5 : Teneur moyenne en vitamines (mg/100g) de la datte

Les composés phénoliques :

La datte renferme des substrats dits composés phénoliques (Mansouri et al, 2005 in Amellal, 2008)

Le tableau 6 résume les travaux réalisés par (Anonyme 2) sur les teneurs en composés phénoliques totaux chez quatre variétés (Mech-Degla et Ghars), Mansouri et al (2005) (Deglet Nour et Tantbouchte)

Variétés	Teneur en mg/100 g de poids frais
"Mech-degla"	1,8± 0,038
"Ghars"	0,75±0,001
"Deglet-Nour"	6,73
"Tantbouchte"	8,36

Source (Mansouri et al (2005))

Tableau 6 : Teneur en composés phénoliques de quelques variétés algériennes

Substances aromatiques :

D'une façon générale, les dattes sont peu aromatiques, et leur arôme, plus ou moins prononcé, semble dû à des esters ou à des groupes d'esters (Munier, 1973).

Les acides organiques : les acides organiques comme l'acide citrique, malique ou oxalique qui seraient une composante de la flaveur des dattes fraîches sont présent en quantités non négligeables durant les stades de maturation des dattes. Cette valeur diminue considérablement au stade «Tmar» (Barreveld, 1993 in Bousdira, 2007)

Les pigments : les principaux pigments identifiés dans les dattes égyptiennes sont : les caroténoïdes, anthocyanines, flavones, flavonols, lycopène, carotènes, flavoxanthine et luteine (Ashmawi et al in Bousdira, 2007)..

Composition biochimique de la partie non comestible "Noyau "

Le noyau présente 7 à 30 % du poids de la datte. Plusieurs études concernant les caractérisations du noyau de la datte ont relevée sa richesse en diverses substances biochimiques et minérales.

Le tableau ci –dessous montre la composition biochimique des noyaux de dattes

Constituants	Teneur
Sucres	5- 6%
Protéines	2,3 -6,4%
Fibres diététiques	22,5 -94%
Composés phénoliques	3102 -4430 mg/100g
Matières grasses	7 – 13 %
Acides gras	
• Acide Oléique	56,1%
• Acide linoléique	11,6%
• Acide laurique	8,3%
• Acide myrétique	6,0%
Cendres	0,9 – 1,8%

Sources (Alhooti et al ; 1998) in Lechab, 2010)

Tableau 7: la composition en éléments minéraux des noyaux de la datte

Le Tableau 8 résume la composition en éléments minéraux des noyaux de dattes de deux variétés différentes (ALhooti et al ,1995 in Al-Shahib et Marshall, 2003)

Eléments minéraux	Teneur en (mg /100g) du poids sec
Potassium	107,3
Phosphore	53,3
Magnésium	53,2
Calcium	37,8
Sodium	2,5
Fer	0,9
Zinc	0,4

(ALhooti et al ,1995 in Al-Shahib et Marshall, 2003)

Ce tableau montre que le potassium est le plus abondant dans le noyau de la datte, suivi par le phosphore, le magnésium, le calcium et le sodium vient en dernier. Pour les micro- éléments, le Fer présente la teneur la plus élevée suivie par le Zinc.

Transformation et utilisation des noyaux de dattes

1. Alimentation les animaux

L'utilisation des sous produits de dattes dans l'alimentation du bétail été étudiée pour la première fois par ALI et al., 1956 ,et en alimentation des poissons par Youssifi et al., 1996, (LECHEB,2010). Ce sous produit du palmier dattier est un bon aliment

pour la nutrition des dromadaires et des moutons (CHAHMA et al., 2004). Enfin selon ABD ELBASSET,(2012), les noyaux des dattes seront utilisés à grande échelle dans l'alimentation des différents animaux .

2. Composition cosmétique

La présente invention se rapporte à l'utilisation non-thérapeutique d'une quantité efficace d'un extrait de noyaux de dattes, sous forme d'une composition cosmétique, pour traiter les manifestations cutanées du vieillissement, pour diminuer les rides et/ou les ridules, ou pour lisser la peau (JAUVE, 2006).

3. Fabrication de charbon actif

Selon HAZOURLI et al., (2007), et BOUCHEMAL et al ., (2008), le charbon actif qui est fabriqué naturellement à base de ND, est un bon élément pour la fixation des toxiques à cause du diamètre de ses pores qui est meilleur que les charbon à pores de petit diamètre, utilisé dans la filtration des eaux usés pour l'élimination du Cr (EL NEMER et al., 2007).

4. Boisson des noyaux de dattes (Café)

Les noyaux de dattes torréfié sont peut-être additionné à une boisson traditionnelle décaféinée qui peut substituer le café quand la caféine est une contrariété une telle boisson est aussi utilisée depuis longtemps dans le monde arabe, un mélange de poudre des noyaux de dattes grillées de manière semblable avec la poudre du café comme une boisson chaude, cette dernier permet de réduire le taux de caféine (RAHMAN & al, 2007).

5. Extraction des antibiotiques

D'après les recherches faites à l'université de l'Emirates dans le cadre de protection des volais contre les maladies, les chercheurs S.Alalili et al sont exploités les noyaux des dattes pour l'extraction des antibiotiques qui ont donné de bon résultats aussi à l'évolution des ces animaux.

6. Fabrication des clous à base des noyaux des dattes pour la fixation des os après une fracture

Deux inventeurs Saoudiens invité une clou à base de noyaux de dattes, cette clou utilisé dans la chirurgie des os dans cas d'une fracture. Cette clou des os disparu naturellement après 45 jours de l'opération sans une ouverture chirurgicale, par contre pour les clous qui utilisé actuellement qui nécessite une ouverture après l'opération du fracture pour prendre le clou.(journal: ECHARK AL AWSAT).

Chapitre 2 :
Les noyaux de datte : composés
phénoliques et rôles biologiques

1 les composés phénoliques

1.1 Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal. Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés (Bahorun, 1997). Il existe plusieurs classifications des composés phénoliques.

1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique.

*** Les dérivés de l'acide benzoïque sont :**

- L'acide hydroxybenzoïque
- l'acide vanillique
- l'acide syringique
- l'acide dihydroxybenzoïque
- l'acide gallique
- l'acide ellagique obtenu par oxydation de l'acide gallique

*** les dérivés de l'acide cinnamique sont :**

- l'acide coumarique
- L'acide férulique
- l'acide sinapique
- l'acide caféique

La liste des acides phénoliques présents dans les plantes ne s'arrête pas là, nous tenons à mentionner en particulier : l'acide méthylgallique, l'acide chlorogénique et l'acide Rosmarinique (Dacosta, 2003).

Les acides phénoliques comportent un radical COOH. Ils se trouvent souvent sous la forme de glycosides ou d'esters.

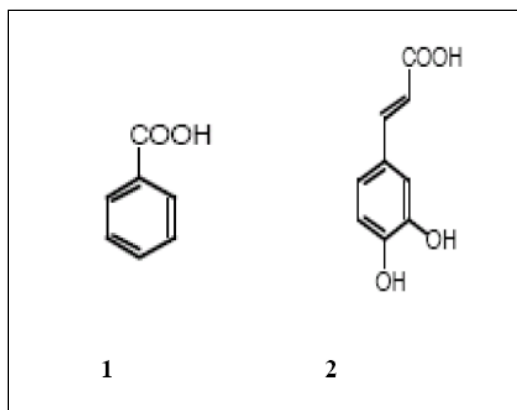


Figure 5 : Structure de l'acide benzoïque(1) et caféique(2) (Krief, 2003)

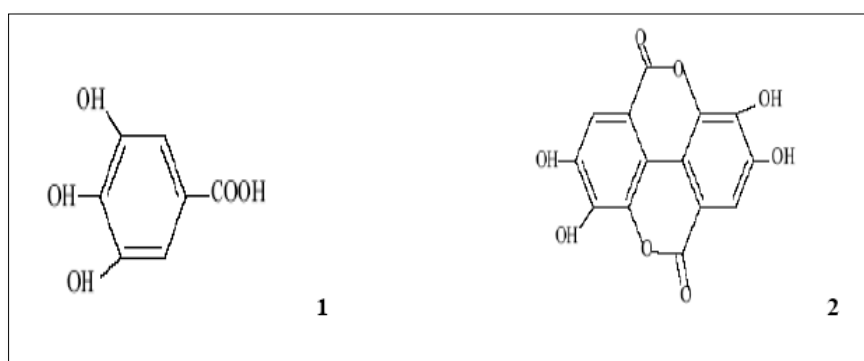


Figure 6 : Structure de l'acide gallique(1) et ellagique(2) (Packer, 2001)

1.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux.

Le monde animal est lui aussi concerné par les flavonoïdes. On trouve par exemple de la chrysin, de la quercétine, et de la galangine dans la propolis des abeilles (Marfak, 2003).

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base (Milane, 2004).

Structuralement, les flavonoïdes ont un squelette de base commun constitué de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles nommés A, C et B. Selon la structure du cycle intermédiaire (cycle C), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules :

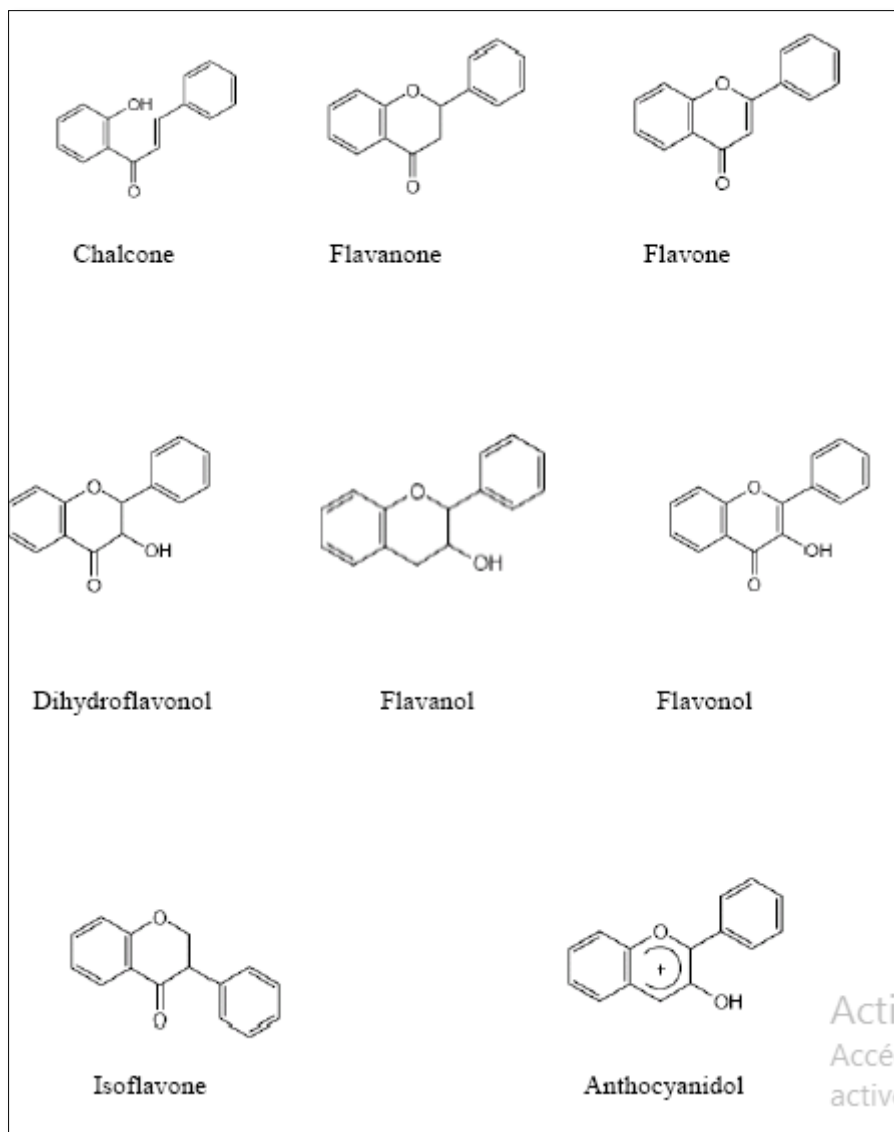


Figure 7 : Squelette de base des sous classes de flavonoïdes (Fiorucci, 2006)

1.3. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols qu'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et les feuilles de thé. Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et les solvants polaires (Hagerman, 2002).

Les tanins ont la propriété de tanner la peau. C'est à dire de la rendre imputrescible ; cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) (Ghestem et al., 2001). Ils présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Bate-Smith et Swain, 1962, cité par Bruneton, 1999).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

1.4. Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les peroxydases (**Perret, 2001**) contrairement aux flavonoïdes, ces composés sont peu répandus chez les végétaux; le raisin et le vin rouge constituent l'apport alimentaire le plus important de ceux-ci (**Krisa et al., 1997**).

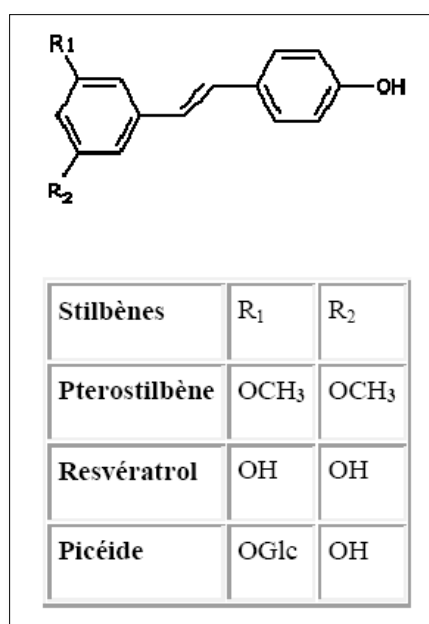


Figure 8: Structures chimiques de quelques stilbènes (Perret, 2001)

1.5. Les lignanes

Les lignanes sont des composés dont les deux noyaux phénoliques sont reliés par quatre atomes de carbone, au lieu de trois dans les flavonoïdes. Les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes (**Krief, 2003**).

Les graines de lin sont la source la plus importante de lignanes viennent ensuite : les lentilles, les haricots blancs, les graines de céréales et certains légumes (**Mazur et al., 1998 ;Stark et al., 2002, cité par Dacosta, 2003**)

1.6. Les Phytostérols et les phytostanols

Les Phytostérols sont des stérols d'origine végétale dont la constitution est voisine de celle du Cholestérol, lequel a une origine animale. Les principaux phytostérols sont :

- le β -sitostérol, qui possède à son extrémité un radical éthyle en position 24.
- Le campestérol, qui possède à son extrémité un radical méthyle en position 24.
- Le stigmastérol, dont la seule différence avec le β -sitostérol est une double liaison entre les positions 22 et 23.

Parmi les phytostanols, les plus importants sont le sitostanol et le campestanol : ils se distinguent respectivement du sitostérol et du campestérol par la suppression d'une double liaison entre les positions 5 et 6 (**Dacosta, 2003**).

Les phytostérols sont des composés naturellement présents dans les plantes. Ils ne sont synthétisés ni par l'homme ni par les animaux. Ils sont présents dans le régime alimentaire sous plusieurs formes, mais les deux formes les plus abondantes sont représentées par le β -sitostérol et le campestérol (**Lagnika, 2005**).

1.7. Les saponines

On désigne sous ce nom une vaste famille de glycosides triterpéniques ou stéroïdiens qui se trouvent dans de nombreuses plantes. Ils sont composés de deux parties :

- Une partie hydrophile, formée d'un ou de plusieurs sucres, eux-mêmes de nature variée
- Une partie aglycone et lipophile (dite sapogénine), qui est soit un résidu de triterpène, soit un résidu de stéroïde.

On trouve les saponines dans le soja, l'ail, les haricots blancs, les épinards, les tomates, les pommes de terre, les graines d'avoine, la luzerne (**Dacosta, 2003**).

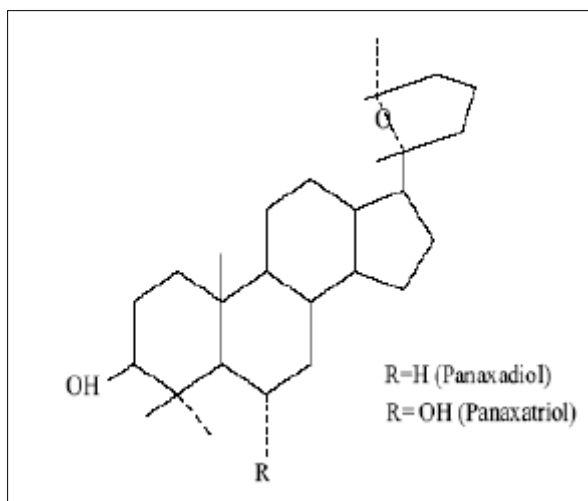


Figure 9 : Structure des saponines du ginseng (Packer, 2001)

1.8. Autres Phytoestrogènes

Cette classe est réservée aux autres phytoestrogènes non intégrés dans les classes déjà cités, rappelons que les phytoestrogènes comprennent les isoflavones, les coumestanes, les stilbènes et les lignanes (**Dacosta, 2003**).

2. Méthodes d'extraction et de dosage des composés phénoliques

2.1. L'extraction

L'extraction des composés phénoliques à partir des plantes est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction employée, la durée et les conditions de stockage ainsi que la présence de substances interférentes.

Différents solvants peuvent être utilisés pour l'extraction de ces composés. Naczki et Shahidi (1992, 1991) cité par Naczki et Shahidi (2004) ont mentionné que l'extraction idéale des tanins condensés à partir des graines de colza est faite par de l'acétone aqueux (70%), le même résultat a été confirmé par Hong et al. (2006) et Hayouni et al. (2006).

Dans de nombreux travaux les acides phénols et les tanins ont été extraits par une mixture de méthanol-eau ou de méthanol-acétone-eau et à température ambiante (Perret, 2001).

L'extraction des composés phénoliques avec de l'eau chaude et avec des enzymes spécifiques a été aussi élaborée (Hurst, 2008).

L'extraction des proanthocyanidines avec de l'eau bouillante a été réalisée avec succès (Naczki et Shahidi, 2004).

2.2. La quantification

La quantification des composés phénoliques est réalisée par analyse spectrophotométrique ou chromatographique.

2.2.1. L'analyse spectrophotométrique

Les méthodes de Folin-Denis et Folin-ciocalteu sont les plus utilisées pour l'estimation des composés phénoliques extractibles totaux (**Regnault-Roger et al., 1987 ; Vermerris et Nicholson, 2006 ; Hurst, 2008**).

La méthode à la vanilline est largement utilisée pour la quantification des Proanthocyanidines (**Porter et al., 1986**).

La méthode HCL-butanol est utilisée pour estimer les tanins condensés de haut poids moléculaire, elle est aussi utilisée en combinaison avec celle de la vanilline pour évaluer le degré de polymérisation des proanthocyanidines.

La méthode à la rhodanine est spécifique au dosage des gallotanins, celle à l'iodate de potassium permet la quantification des tanins hydrolysables en général (**Hagerman, 2002**).

2.2.2. L'analyse chromatographique

Selon **Naczk et Shahidi, (2004)** de diverses techniques de chromatographie en phase gazeuse ont été employées pour la séparation et la quantification des acides phénols et des isoflavones.

Les techniques d'HPLC sont de nos jours largement utilisées pour identifier et quantifier les composés phénoliques.

La chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrophotométrie de masse est utilisée pour la caractérisation structurale des composés phénoliques.

2.2.3. La méthode de la diffusion radiale

La méthode de la diffusion radiale est une méthode simple se basant sur la précipitation protéique, utilisée quand on ne dispose pas de moyens d'analyse spectrophotométrique ou chromatographique. Cette méthode a été développée pour estimer les tanins (**Hagerman, 1989**).

2_ Le rôle biologique des composés phénoliques

1. Rôle physiologique

Des travaux plus anciens (**Nitsch et Nitsch, 1961; Alibert et al., 1977**, cité par **Bahorun, 1997**) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

Les composés phénoliques participent aux mécanismes d'inhibition tégumentaire : au moment de la germination, l'oxydation des phénols capte une partie de l'oxygène nécessaire à la reprise de l'activité respiratoire de l'embryon ce qui retarde la sortie de la plantule (**Guignard, 1996**)

Les flavonoïdes montrent des propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance (**Marfak, 2003**). La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bate Smith, 1973**, cité par **Aron, 2007**), et c'est l'exemple de l'implication des composés phénoliques du palmier dattier dans les réaction de défense de cette plante contre le bayoud, maladie infectieuse due à un champignon tellurique : *Fusarium oxysporum f.sp* (**Daayf et al., 2003**).

2. Rôle technologique

Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits mûrs. Ils confèrent aux fruits et légumes leurs teintes rouges ou Bleutées (**Marfak, 2003**).

Les composés phénoliques déterminent également la saveur des fruits : les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs, les flavanones sont responsables de l'amertume des Citrus et peuvent donner naissance, par transformation chimique, à des dihydrochalcones à saveur sucrée (**Dubois et al., 1977**, cité par **Bahorun, 1997**).

Les proanthocyanidines sont largement répandus dans notre alimentation et jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits (**Perret, 2001**).

3. Rôle biologique, pharmacologique et thérapeutique :

POLYPHENOLS	ACTIVITES	AUTEURS
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes	Didry et al. 1982 Ravn et al. 1984 Hayase et Kato 1984
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses	Mabry et Ulubelen 1980
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes	Stavric et Matula 1992 Das et al. 1994 Bidet et al. 1987 Bruneton 1993 Aruoma et al. 1995
Anthocyanes	Protectrices capillaro- veineux	Bruneton 1993
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	Masquelier et al. 1979 Bahorun et al. 1994, 1996 De Oliveira et al. 1972 Brownlee et al. 1992 Kreofsky et al. 1992
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes	Okuda et al. 1983 Okamura et al. 1993

Tableau 8 : Activités biologiques des composés phénoliques (Bahorun, 1997)

Les propriétés biologiques des flavonoïdes y compris les proanthocyanidines ont été extensivement réexaminées. En plus de leur pouvoir antioxydant, les proanthocyanidines possèdent un effet antibactérien, antiviral, anticancérogène, antiinflammatoire, antiallergique et vasodilatateur (**Bagchi et al., 1998 ; Murray et al., 1999 ; Bombardelli et al., 1997**, cité par **Fine, 2000**)

Les flavonoïdes sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (**Milane, 2004**) ; ils inhibent les enzymes responsables de la formation des radicaux libres (**Marfak, 2003**).

Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase (**Ohemeng et al.,**

1993 ; Milane, 2004). Les gallotanins et les proanthocyanidines galloylées montrent une forte activité contre les anions superoxydes (O_2^-) (Ricardo-Da-Silva et al., 1991; Plumb et al., 1998) L'acide férulique est un protecteur naturel de la peau vis à vis des radiations ultraviolettes (Bruneton, 1999).

Les complexes oligomériques de proanthocyanidines inhibent la peroxydation des lipides, l'agrégation plaquettaire ainsi que la fragilité et la perméabilité capillaire (Fine, 2000) Les stilbènes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes vis-à-vis des lipoprotéines à basse densité (LDL). Ils pourraient ainsi jouer un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires (Frankel et al., 1991 cité par Perret, 2001). Il a été démontré que certains stilbènes possèdent des propriétés antifongiques (Pezet et Pont, 1995 ; Perret, 2001).

3.1. L'activité antioxydante

3.1.1. Production endogène des radicaux libres

Au cours de diverses réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène apparaissent telles que, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical superoxyde O_2^- , Les peroxydes alkyles $ROOH$ et les radicaux hydroxyles $HO\cdot$, peroxydes $ROO\cdot$ et alkoxydes $RO\cdot$ et d'autres. On les désigne souvent comme espèces réactives de l'oxygène (Fiorucci, 2006).

La phagocytose des germes bactériens s'accompagne d'une production massive d'anions superoxydes par le métabolisme leucocytaire (Milane, 2004).

Ces radicaux s'attaquent à une série de substrats biologiques : glucides, lipides, protéines et acide désoxyribonucléique (Marfak, 2003).

3.1.2. Réaction de l'organisme vis-à-vis des radicaux libres

L'organisme se défend contre les radicaux par le biais d'enzymes qui les neutralisent comme le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase.

Cependant, lorsque la quantité de radicaux libres est trop importante, les cellules n'arrivent pas toujours à produire suffisamment d'antioxydants. IL semble ainsi que les formes réactives de l' O_2 soient en partie à l'origine de nombreuses maladies comme Alzheimer, Parkinson, l'athérosclérose, la polyarthrite chronique, le mongolisme ou encore le cancer (Müller, 1992; Aouissa, 2002).

3.1.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des produits naturels ou synthétiques entraînant la neutralisation des radicaux libres qui sont les vecteurs du stress oxydatif lui-même responsable de la détérioration et du vieillissement cellulaire (www.argalys.com).

Les antioxydants se définissent comme étant des produits chimiques qui, plus spécifiquement, retardent la détérioration, la rancidité ou la décoloration causée par l'oxydation (**Diallo, 2005**).

3.1.4. Mécanisme d'action d'un antioxydant

D'après (**Halliwell, 1996**) les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre :

- Le piégeage direct des ROS.
- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS.

3.1.5. Les sources d'antioxydants

Les antioxydants sont d'origine médicamenteuse et alimentaire.

a. Les médicaments

Actuellement, plusieurs agents thérapeutiques notamment les antihypertensifs, les bêta bloquants, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes.

On cite les exemples :

Le Probucol agit comme un antioxydant en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de basse densité.

La N-acétylcystéine agirait de manière significative dans la régénération d'un antioxydant connu: le glutathion (**Calvin, 2001**).

b. L'alimentation

❖ les antioxydants naturels

De nombreuses molécules possédant des propriétés antioxydantes ont été isolées du monde végétal particulièrement le resvératrol (raisin), les polyphénols de Ginkgo, l'épicatéchine du thé vert, du vin rouge, l'hydroxytyrosol de l'huile d'olive (**Hennebelle et al., 2004**).

Les fruits et les légumes composants notre alimentation sont généralement riches en antioxydants naturels tels que :

- **La vitamine E** (tocophérol) prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est retrouvée dans les huiles végétales, dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les oeufs et les légumes à feuilles vertes (**Aouissa, 2002**).

- **Le β - carotène** possède, outre l'activité provitaminique A, la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est présent dans les légumes verts, les épinards, les carottes, la papaye et d'autres fruits jaunes.

-**La vitamine C** est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (**Sies et Stahl, 1995**). Elle est présente dans les légumes, le chou, le persil, les agrumes, le kiwi.

-**Le sélénium** est un antioxydant essentiel. Il agirait comme une coenzyme pour la glutathion Peroxydase, enzyme antioxydante capable de réduire les lipides oxydés des membranes cellulaires. On le trouve dans la viande, le poisson, et les céréales.

- **Les composés phénoliques** (Ils ont été décrits au chapitre II)

❖ les antioxydants naturels



Ce sont des produits utilisés dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments : Butylhydroxytoluène (BHT), Butylhydroxyanisole (BHA).

3.2. L'activité antibactérienne

3.2.1. Définition des antibiotiques

Substances naturelles, hémi-synthétiques ou synthétiques qui perturbent le fonctionnement de cibles bactériennes spécifiques. Suffisamment bien tolérées pour être administrées au patient. Elles sont bactériostatiques ou bactéricides aux concentrations thérapeutiques. Chaque antibiotique a un spectre d'activité (limité ou large) qui correspond aux différentes espèces bactériennes susceptibles d'être sensibles à son action (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Antibiotique>).

3.2.2. Mode d'action des antibiotiques

(www.antibiotiques.org/acceuil.html)

* Inhibition de la synthèse pariétale

a- Les bêta-lactamines

b- Les glycopeptides

c- La fosfomycine

***Inhibition des synthèses protéiques :**

Aminosides, Tétracyclines, Macrolides, Lincosamides, Synergistines, Chloramphénicol, Acide fusidique.

***Inhibition de la synthèse des acides nucléiques :**

-Les quinolones, Rifamycine, les sulfamides et les nitroimidazoles.

* Modifications membranaire.

3.2.3. L'antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans un but épidémiologique ou thérapeutique.

Un antibiogramme permet donc de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne.

Il donnera des indications sur l'efficacité *in vitro* de ces antibiotiques.

3.3. L'activité antifongique

3.3.1. Définition des antifongiques

Ce sont des substances qui détruisent les champignons responsables des mycoses : infections par des champignons microscopiques (fongicides) ou qui empêchent leur croissance et leur multiplication (fongostatiques) (**Ybert, 2001**).

3.3.2. L'antifongogramme

Un antifongogramme est une technique qui permet de tester *in vitro* la sensibilité d'un champignon à l'action de substances antifongiques. (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Antibiotique>).



Chapitre 3

Matériel et méthodes

Dans ce chapitre nous allons présenter les matériaux utilisés dans notre travail qui a été réalisé au laboratoire de biochimie, Centre de Recherche Biotechnologie (C.R.Bt) à Constantine, Algérie. Nous nous sentons très chanceux parce que nous avons eu l'occasion de travailler dans ce laboratoire grâce à d'excellentes installations de recherche et entouré de gens qui nous soutiennent.

III.1 Matériel

III.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est constitué de trois variétés de noyaux de dattes : la variété Ghars, la variété Deglet-Nour et la variété Mech-Degla. Nous avons choisi ces variétés à cause de leur large consommation en Algérie ainsi que leur disponibilité sur le marché.

Ces dattes ont été achetées de la région de Tolga à Biskra. Elles ont été séchées à l'aire libre puis finement broyées pour obtenir une poudre fine et à l'abri de la lumière.



Figure 10 Aspect de datte, noyaux et poudre de variété de Ghars



Figure 11 : Aspect de datte, noyaux et poudre de variété de Deglet Nour



Figure 12 : Aspect de dattes, noyaux et poudre de variété de Mech Degla

III.1.2 Réactifs chimiques et solvants

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans les différents compartiments de cette étude :

Tableau 9 : Solvants utilisés et leurs formules.

Solvants	formule
Méthanol	CH ₃ OH
Buthanol	C ₄ H ₁₀ O
Acétate d'éthyle	C ₄ H ₈ O ₂
Éthanol	C ₂ H ₆ O

Tableau 10 : Réactifs utilisés et leurs formules.

DPPH diphénylpicryl β hydrazyl
Acétate d'ammonium (Cu Cl ₂ , 2H ₂ O)
Neocupronine
nitrate d'aluminium (Al(NO ₃) ₃ , 9H ₂ O)
Potassium Acétate (CH ₃ COOK)

III.1.3 Appareils utilisés :

a. Lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire)

Un lecteur de plaques est un appareil servant à automatiser la lecture des plaques microtitre en biologie moléculaire.

b. Rota-vapeur

Cet appareil permet d'éliminer rapidement un solvant volatil par évaporation. Le principe est basé sur l'abaissement du point d'ébullition avec la pression.

c. Broyeur à lame

Machine ou appareil dont la fonction est de broyer, de concasser, de réduire à l'état de particule.

d. Ultrason

Le bain à ultrasons ou nettoyage à ultrasons ou sonicateur est une procédure accélérée de nettoyage de pièces ou de dissolution de produits par l'effet mécanique d'ondes ultrasonores de fréquence généralement comprises entre 20 kHz et 400 kHz.

e. Bain marie

Cet appareil convient parfaitement pour des incubations et inactivations de cultures, également par ex. pour le chauffage de milieux bactériologiques, pour les réactions chimiques ou pour la décongélation d'échantillons.

f. Balance électrique

C'est un instrument essentiel en laboratoire pour peser les masses des échantillons.

i. Agitateur vortex

Instrument indispensable en laboratoire, l'agitateur mélange une solution en générant, comme son nom l'indique, un vortex puissant dans la solution par application d'un mouvement orbital rapide à la base du tube. Ce modèle est adapté pour toute agitation ponctuelle ou occasionnelle de petites séries de tube.

j. Agitateur magnétique

Instrument quasi-indispensable dans un laboratoire de chimie, l'agitateur magnétique comme son nom l'indique permet d'agiter une solution en utilisant la force magnétique, il comprend un moteur électrique dont la vitesse est réglée électroniquement entraîne un disque ou un cylindre magnétique qui à son tour entraîne un barreau aimanté aussi appelé « turbulent ». La vitesse de rotation varie généralement de 60 à 1200 tours/minute.

k. Etuve

Est un appareil de chauffage fonctionnant le plus souvent à la pression atmosphérique (parfois sous vide ou sous gaz neutre) et permettant d'effectuer divers traitements thermiques à température réglée. Les laboratoires d'analyse ou de recherche en sont souvent pourvus.

III.2 Méthode

III.2.1 Broyage

Les noyaux de trois variétés de dates sont séchés et réduits en poudre fine grâce à un broyeur électrique. La poudre obtenue est conservée dans une boîte en verre couverte avec un papier aluminium à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances Actives dans la poudre.

III.2.2 Préparation des extraits de noyaux

L'extraction des substances bioactives contenues dans les noyaux de dates est réalisée par une macération des noyaux on pèse :

- 30 g de noyaux de Gars
- 30 g de noyaux de Deglet Nour
- 30 g de noyaux de Mech Degla

Chaque échantillon est mélangé avec Méthanol-eau (80/20.V/V)

Dans notre étude, l'extraction a été effectuée selon la méthode macération assistée ultra-son (Sonicateur à tiges) pendant 15 minutes.

III.2.2.1 Séchage par évaporateur rotatif

L'élimination du solvant a été effectuée à l'aide d'un évaporateur rotatif dans une température de 40°C et une pression de 20 mBar

III.2.2.2 Rendements des extraits

L'extraction des noyaux étudiés, nous a permis de déterminer les rendements de leurs extraits. L'extrait a été quantifié selon la formule suivante :

$$R\% = PE / PMV * 100$$

R : rendement

PE : poids de l'extrait (g)

PMV : poids de matière végétale (g)

Les valeurs obtenues sont représentées dans les tableaux suivants :

Les noyaux	PMV (g)	PE (g)	R%
Ghars	30	2,46	8,2
Deglet Nour	30	1,52	5,06
Mech Degla	30	1,76	5,86

Tableau 11 : Solvant d'extraction de l'extrait Hydro-Méthanolique

La détermination des taux de rendement des différentes extractions effectuées nous a permis de rapporter nos résultats de dosage au poids frais des noyaux de dattes. Ces rendements sont exprimés en pourcentage de la matière fraîche.

C'est l'extrait hydro-méthanolique de noyaux de la variété Ghars qui a donné la valeur la plus élevée des trois autres extraits.

III.2.3 Protocoles

III.2.3.1 Total Flavonoïdes

III.2.3.1.1 Principe de la réaction :

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode de **Topçu et al., (2007)** est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

III.2.3.1.2 Instrument utilisés :

Un lecteur microplaque (**Perkin Elmer, Enspire**) est utilisé pour la mesure de l'absorbance

III.2.3.1.3 Réactifs utilisés :

- 1- Méthanol
- 2- Eau distillé
- 3- 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3, 9H_2O$)
- 4- 1 M Potassium acétate (CH_3COOK)
- 5- Quercetin (Flavonoïde)
- 6- Extrait de plante

III.2.3.1.4 Préparation des solutions:

Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissout 9.80 gramme de (CH_3COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S_1

Pour 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3, 9H_2O$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

III.2.3.1.4 Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S_2).

III.2.3.1.5 Procédure :

A- Pour l'extrait :

50 μ l (S_2) (extrait de plante) + 130 μ l (MeOH) +10 μ l (S_1) (CH_3COOK) + 10 μ l ($Al(NO_3)_2, 9H_2O$) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 μ l extrait + 150 μ l méthanol).

B- Pour l'étalon :

III.2.3.6 Préparation de la gamme d'étalon de la Quercetin :

On prend 1 mg de la Quercetin et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml S_m .

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

Quercetin (25) → 25 μ l S_m + 175 μ l MeOH

Quercetin (50) → 50 μ l S_m + 150 μ l MeOH

Quercetin (75) → 75 μ l S_m + 125 μ l MeOH

Quercetin (100) → 100 μ l S_m + 100 μ l MeOH

Quercetin (125) → 125 μ l S_m + 75 μ l MeOH

Quercetin (150) → 150 μ l S_m + 50 μ l MeOH

Quercétine (175) → 175 μ l S_m + 25 μ l MeOH

Quercetin (200) → 200 μ l S_m + 0 MeOH

50 μ l de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 μ l (MeOH) + 10 μ l (S_1) (CH_3COOK) + 10 μ l ($Al(NO_3)_2 \cdot 9H_2O$) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm.

Référence

Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. Food Chemistry 103: 816–822

III.2.3.2 Piégeage du radical libre DPPH

III.2.3.2.1 Principe de la réaction :

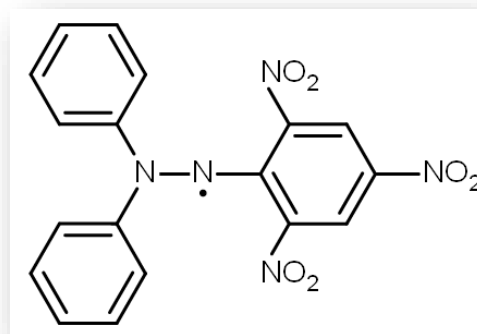
L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois 1958), le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

III.2.3.2.2 Instrument utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 μ l pour chaque puits

III.2.3.2.3 Réactifs utilisés :

- 7- Ethanol
- 8- DPPH
- 9- α -tocopherol
- 10- BHA
- 11- BHT
- 12- Quercetine ou Catéchine
- 13- Extrait de plante



III.2.3.2.4 Mode opératoire :

III.2.3.2.5 Préparation de la DPPH :

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

III.2.3.2.6 Procédure:

160 μl (DPPH) + 40 μl (extrait) + lecture 517

Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181): 1119-1200.

III.2.3.3 CUPRAC

III.2.3.3.1 Principe de la réaction :

Le Cupric reducing antioxidant capacity est déterminé par la méthode CUPRAC, Apak et al., 2004

III.2.3.3.2 Instrument utilisés :

a) Réactifs utilisés :

- 1- Eau distillé
- 2- Acetate d'ammonium
- 3- (Cu Cl₂, 2H₂O)
- 4- Neocupronin
- 5- BHT, α -Tocophérol

b) Procédure :

1- Préparation des solutions:

- $m = 1,927 \text{ g}$ Acetate d'ammonium (ACNH_4) + 25 ml (H_2O) → S1 transparent (PH=7.0)
- $m = 0,042625 \text{ g}$ ($\text{Cu Cl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$) + 25 ml (H_2O) → S2 bleu
- $m = 0,039 \text{ g}$ (Neocupronin) + 25 ml (EtOH) → S3

1- ajouter la solution S1 au plat qui contient les extraits → pour lecture

2- mélanger la solution S2 et S3 → pour lecture

3- le CUPRAC prend une heure de temps pour lecture

2- Procédure:

40 μl extrait + 60 μl (S1) + 50 μl (S3) +50 μl (S2) +attendre 1 heure+ lecture à 450nm

$M(\text{Cu Cl}_2, 2\text{H}_2\text{O}) = 170,50 \text{ g/mol}$

$M(\text{ACNH}_4) = 77 \text{ g/mol}$

$M(\text{Neocupronin}) = 208,27 \text{ g/mol}$

Référence :

Apak, R., Guclu^{••}, K., Ozyurek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 7970–7981.

III.2.3.4 Activité anti-cholinestérase

III.2.3.4.1 Principe de la réaction :

L'activité Acetylcholinestérase and butyrylcholinestérase inhibitory activités est déterminée par la méthode de Ellman et al. (1961)

III.2.3.4.2 Instrument utilisé :

Un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque

III.2.3.4.3 Réactifs utilisés :

14- $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$

15- $\text{NaH}_2\text{PO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$

- 16- NaHCO₃, NaOH
- 17- DTNB
- 18- ACI (Acetylthiocholine iodide)
- 19- BuCI (S-Butyrylthiocholine iodide)
- 20- AChE
- 21- BChE
- 22- Galantamine
- 23- Eau distillé, Ethanol

III.2.3.4.4 Procédure :

a) Solution tampon:

- 1- 8,890 g de (Na₂HPO₄, 2H₂O) + 500 ml de H₂O → V1
 - 2- 1,56 g de (NaH₂PO₄, 2H₂O) + 100 ml de H₂O → V2
- V1 + V2 → Solution Tampon comme le montre le tableau suivant
On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du PH

PH	5,8	6,2	6,4	6,6	6,8	7	7,2	7,4	7,6	7,8	8
NaH ₂ PO ₄ (ml)	92	81,5	73,5	62,5	51	39	28	19	13	8,5	5,3
Na ₂ HPO ₄ (ml)	8	18,5	26,5	37,5	49	61	72	81	87	91,5	94,5

DTNB (5,5-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) Solution:

16 mg DTNB + 1 ml (PH=7) + 7,5 mg NaHCO₃ + 1 ml (PH=7) + 2 ml (PH=7) + 4 ml (PH=8) → volume total 8 ml

ACI (Acetylthiocholine iodide) substrate Solution:

16 mg ACI + 4 ml H₂O + 4 ml Tampon (PH =8)

BuCI (S-Butyrylthiocholine iodide) substrate Solution:

4 mg BuCI + 4 ml H₂O + 4 ml Tampon (PH =8)

Préparation des enzymes:

1- AChE Solution:

- 0,2 mg AChE + 4 ml (PH=8) pour donner la solution A
- Mettre 20 µl de la solution A dans 20 eppendorff

- On prend un seul eppendorff qui contient 20 μ l de la solution A et on ajoute 3 ml de PH = 8 + contrôlé l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5

2- BChE Solution:

- 0,2 mg AChE + 1 ml (PH=8) pour donner la solution A
- Mettre 20 μ l de la solution A dans 20 eppendorff
- On prend un seul eppendorff qui contient 20 μ l de la solution A et on ajoute 2 ml de PH = 8 + contrôlé l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5

b) Procédure:

150 μ L of 100 mM sodium phosphate buffer (pH 8.0)+ 10 μ L d'extrait solution dissous dans l'éthanol a différentes concentrations + 20 μ L AChE (5.32×10^{-3} U) ou BChE (6.85×10^{-3} U) solution+ incubé a 25°C pendant 15 mn + 10 μ L of DTNB (0.5 mM) + 10 μ L of acetylthiocholine iodide (0.71 mM) ou 10 μ L of butyrylthiocholine chloride (0.2 mM)+ lecture à 412 nm, pour 0 mn une fois lecture, 5 mn deux lecture, 10 mn trois lecture, 15 mn quatre lecture

Le pourcentage d'inhibition de AChE ou BChE enzymes est déterminé par rapport au blanc (éthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule $(E - S)/E * 100$.

E : l'activité de l'enzyme sans extrait / S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait

Le Galantamine est utilisé comme référence.



**Chapitre 04 :
Résultats et discussion**

IV.1 Résultat et discussion

L'activité antioxydant ne doit pas être conclue sur la base d'un seul modèle de test antioxydant. Et en pratique, plusieurs essais in vitro procédures sont menés pour évaluer les Activités antioxydants avec les échantillons d'intérêt.

Les trois techniques utilisées sont ; DPPH, CUPRAC.

IV.1.1 Détermination des IC₅₀ des extraits et des standards

La valeur IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) est déterminée pour les extraits et les standards utilisés .Elle est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'Activité de DPPH ou d'ABTS, ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigée pour diminuer de 50% l'absorbance de la solution de DPPH ou d'ABTS Les IC₅₀ sont inversement proportion elles à l'effet scavenge dont les valeurs faibles reflètent un effet anti radicalaire important (Villanoetal, 2007).

IV.1.1.1 Méthode pour calculé IC₅₀ :

$$I = ((A C - A E) / A C) \times 100$$

A C : Absorbance du contrôle.

A E : Absorbance de l'extrait.

IV.1.2 Teneur des extraits en flavonoïdes :

La concentration des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode au trichlorure d'ammonium. Les taux des flavonoïdes des deux extraits ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (Figure ?) qui suit une équation de type : $y = 0,0087x - 0,04$ sachant que $R^2 = 0,9747$. Les concentrations des flavonoïdes de l'échantillon sont déterminées à partir une gamme d'étalonnage établie avec la quercitrine.

Chapitre 04 : Résultats et discussion

[C] ug/ml	Ab1	Ab2	Ab3
25	0,147	0,168	0,178
50	0,371	0,348	0,348
75	0,58	0,628	0,643
100	0,765	0,991	0,954
125	1,064	1,078	1,228
150	1,005	1,217	1,293
175	1,42	1,652	1,441

Tableau 12 : Absorbance de la gamme quercitrine

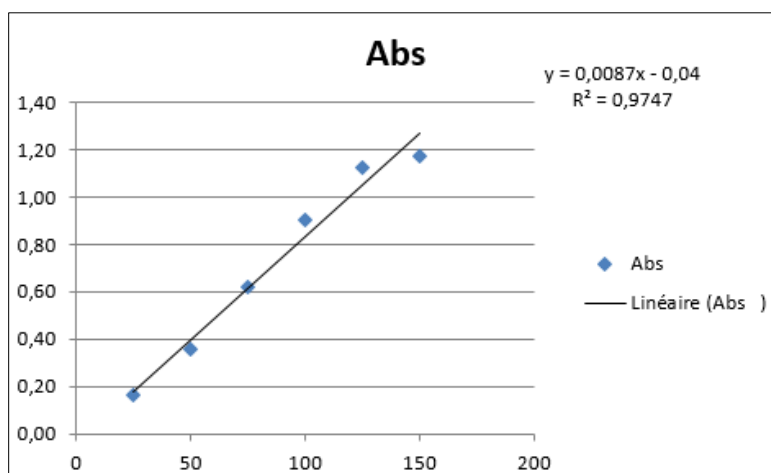


Figure 13 : courbe d'étalonnage de la gamme quercétine (Moyenne \pm ET de trois essais).

	1	1	1	2	2	2	3	3	3
Absorbance	0,54	0,60	0,62	0,34	0,36	0,37	0,31	0,33	0,33
Contrôle	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12
S	0,44	0,49	0,51	0,24	0,25	0,26	0,19	0,21	0,21
P	55,2 9	60,8 0	63,22	31,72	33,56	34,48	26,55	28,9 7	28,62

Tableau 13 : Absorbance des trois extraits et contrôle par lecture microplaque et valeurs de S et P

Calcul des Teneurs		
Extrait	Moyene	ET
1	59,77	4,07
2	33,26	1,40
3	28,05	1,31

Tableau 14 : Moyennes et l'écart type des trois extraits.

Extracts	Total Flavonoid content (mg/g)
1	59,77±4,07
2	33,26±1.40
3	28,05±1.31

Tableau 15 : Valeurs des teneurs en flavonoïdes.

D'après le tableau, les valeurs de teneur en flavonoïdes des extraits 1 et 2 (59,77±4,07 et 33,26±1.40 mg/g) montrent une teneur plus forte, la teneur d'extrait 3 présente une valeur plus au moins faible (28,05±1.31 mg/g) en comparant avec les valeurs précédentes.

IV.1.2 DPPH

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (**Molyneux, 2004**). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphényl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune.

Extra cts	% Inhibition in DPPH assay							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0.50} µg/mL
Ext.1	14.98± 1.02	25.50± 0.73	45.58± 0.89	65.27± 2.07	74.50± 5.75	79.47± 0.84	79.99± 0.11	15.74± 0.69
Ext.2	15.82± 2.02	25.82± 1.51	48.93± 1.32	63.33± 1.26	76.95± 0.97	79.02± 0.78	79.28± 0.19	15.56± 0.63
Ext.3	21.17± 1.02	39.32± 4.84	61.85± 1.68	74.44± 1.18	79.99± 0.40	80.31± 0.73	80.63± 0.34	10.19± 0.51
BHT	11,69± 1,88	22,21± 1,30	37,12± 1,80	52,63± 2,70	56,02± 0,53	83,60± 0,23	87,28± 0,26	22.32± 1.19
BHA	28,95± 1,16	54,33± 1,59	76,76± 1,65	84,09± 0,35	87,53± 0,82	87,73± 0,15	88,43± 0,23	5.73±0. 41

Tableau 16 : Pourcentage d'inhibition et l' IC₅₀ pour DPPH.

- Ext.1 : noyaux de variété Gars
 Ext.2 : noyaux de variété Deglet Nour
 Ext.3 : noyaux de variété Mech Degla

D'après le tableau, les valeurs de IC₅₀ des trois extraits (EXT.1 : 15.74±0.69 µg/mL, EXT.2: 15.56±0.63 µg/mL, EXT.3: 10.19±0.51 µg/mL) montre une activité très forte en comparaison avec les standard BHT et BHA (22.32±1.19, 5.73±0.41 µg/mL)

IV.1.3. CUPRAC

La mesure ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) permet de déterminer si une source organique possède un effet antioxydant en le comparant à un analogue de la vitamine E : le trolox. Dans cet essai, l'AAPH (2,2'-azobis-2-aminopropane dihydrochloride) est utilisé comme source génératrice de radicaux peroxy. L'addition de fluorescéine comme sonde fluorescente permet de quantifier, à l'aide d'une analyse spectrophotométrique, en fonction du temps, la perte de fluorescence associée à la réaction avec les radicaux libres fournis par l'AAPH par un mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène. La présence d'antioxydants empêche ou ralentit la perte de fluorescence qui est calculée par l'aire sous la courbe en fonction du temps. Celle-ci peut être détectée à une longueur d'onde d'excitation de 485 nm et d'émission de 520 nm. Il s'agit donc d'une méthode permettant de mesurer la capacité antioxydant contre les radicaux peroxy (**OU et al, 2001**). Lorsqu'un capteur de radicaux libres est incorporé dans le milieu, les radicaux libres sont captés, et la fluorescence persiste, donnant ainsi une idée précise du pouvoir anti-radical libre, donc antioxydant de l'échantillon (**ROLLAND, 2004**).

Extra cts	% Inhibition in CUPRAC assay							A _{0.50} µg/mL
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	
1	0.19±0.01	0.29±0.00	0.45±0.03	0.76±0.03	1.31±0.22	2.51±0.05	3.95±0.01	14.50±0.14
2	0.21±0.01	0.34±0.02	0.53±0.02	0.90±0.05	1.65±0.16	3.02±0.08	4.07±0.01	11.72±0.85
3	0.24±0.01	0.38±0.01	0.62±0.01	1.09±0.02	1.96±0.07	3.35±0.08	4.10±0.13	9.47±0.19
BHT	0.19±0.01	0.33±0.04	0.66±0.07	1.03±0.07	1.48±0.09	2.04±0.14	2.32±0.28	9.62±0.87
BH A	0.46±0.00	0.78±0.01	1.34±0.08	2.36±0.17	3.45±0.02	3.76±0.03	3.93±0.01	3.64±0.19

Tableau 17 : Pourcentage d'inhibition et l' IC₅₀ pour CUPRAC.

D'après le tableau, les valeurs de IC₅₀ des trois extraits (EXT.1 : 14.50±0.14 µg/mL, EXT.2: 11.72±0.85 µg/mL, EXT.3: 9.47±0.19 µg/mL) montre une activité très forte en comparaison avec les standard BHT et BHA (9.62±0.87, 3.64±0.19µg/mL)

IV.1.4. Anticholinestérase (Anti-Alzheimer)

L'activité anti-Alzheimer de l'échantillon a été déterminée par la méthode spectroscopique en tant que leurs potentiels d'inhibition des acétyl-cholinestérases (AChE) et des butyryl-cholinestérases (BChE) (Ellman et *al.*, 1961). La solution échantillon a été préparée dans du méthanol. 10 l de solution d'échantillon et 20 Al de solution d'AChE (ou BChE) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 25°C. Aliquote de 10 l de solution 5.5`-Dithiobis (acide 2-nitro-benzoïque) (DTNB) (préparée par 2,0 ml de pH 7,0 et 4,0 ml de tampon phosphate pH 8,0, 1,0 ml de solution DTNB à 16 mg/ml et 7,5 mg /ml

NaHC03 dans un tampon phosphate pH 7,0) a été ajouté. La réaction a été initiée par l'ajout de 10 µl d'iodure d'acétylthiocholine (AcI) ou d'iodure de S-butrylthiocholine (BuI). L'hydrolyse de ces substrats a été suivie à 412 nm. La galanthamine a été utilisée comme standard. Les résultats ont été donnés en pourcentage d'inhibition.

Extra cts	% Inhibition in anticholinestérase activity.							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/mL
Ext.1	6.46±3. 47	6.73±2. 37	6.89±0. 57	8.04±1. 02	12.04± 5.57	16.27± 5.27	32.26± 3.15	>200
Ext.2	17.00± 2.95	18.26± 1.08	19.40± 1.68	22.43± 3.43	32.02± 2.90	34.17± 2.22	37.30± 1.34	>200
Ext.3	26.73± 4.42	27.19± 0.82	30.65± 2.22	31.31± 4.58	38.53± 4.01	39.59± 3.83	40.14± 1.15	>200

Tableau 18 : Pourcentage d'inhibition et l' IC₅₀ pour Anticholinestérase.

La galantamine: IC₅₀ = 34,75 ± 1,99 µg/mL

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative et l'inhibition de l'acétyl/butyrylcholinestérase est la stratégie la plus courante pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (Sambamurti et *al.*, 2002).

Dans les conditions du dosage, les valeurs de IC₅₀ de l'extrait hydro-méthanolique des trois extraits est plus de 200 µg/mL. En effet, l'inhibition de l'extrait s'est révélée moins active que le contrôle positif galantamine (IC₅₀ = 34,75 ± 1,99 µg/mL)



Conclusion Générale

Conclusion Générale

Notre étude a été consacrée pour l'évaluation de l'activité antyoxidante de trois variétés de noyaux de dates su Sahara algérienne (Ghars, Deglet Nour et Mech degla), suivie par le dosage de quelques antioxydants de ces noyaux (totale flavonoïde et activité anti-Alzheimer).

L'étude de l'activité anti radicalaire DPPH a montré que les trois extraits ayant une activité très forte en comparaison avec les standard BHT et BHA.

Pour la réduction des ions cuivre (CUPRAC), les trois extraits montre aussi une activité très forte en comparaison avec les standard BHT et BHA

D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que les extraits montrent une teneur plus forte, la teneur d'extrait 3 présente une valeur plus au moins faible en comparaisant avec les valeurs précédentes.

Pour l'activité **anticholinesterase (Anti-Alzheimer)**, l'inhibition de l'extrait s'est révélée moins active que le contrôle positif galantamine.

Dans ce contexte ces variétés de noyaux de dates peuvent être exploitées pour en extraire les composants actifs à visée thérapeutique, dont les composés phénoliques. En outre, la variabilité des teneurs en ces composés des différents extraits, incite à mieux choisir le solvant et le mode d'extraction.

Au terme de cette étude, nous estimons très intéressent de l'approfondir, en établissant entre autres le profil phénoliques des différents extraits des noyaux de dattes étudiées, purifier leurs constituants et étudier leur structures pour mettre le point sur ceux dotés d'activité biologique.

Références Bibliographiques

-A-

- Abou-Zeid, A. A., Nabeih, A. & Baghlaf, O. (1991). The formation of oxytetracycline in a date coat medium., *Bioresource Technology* (37):179-184.
- Acourene, S. & Tama, M. (1997). Caractérisation physicochimiques des principaux cultivars de dattes de la région de Ziban. *Revue Recherche Agronomique.*, INRAA Algerie (1): 59-66.
- Addoun, A., Merzoug, Z. & Belhachemi, M. (2000). Préparation et caractérisation de matériaux a Gand pouvoir adsorbant. Thèse magistère.
- AFNOR., (1986) : Produits et dérivés des fruits et légumes, jus de fruits, Deuxième édition, Ed-AFNOR Tour Europe, Paris, p81-85.
- Ahmed I A, Ahmed K A W, Robinson R K., (1995). Chemical composition of date varieties as influenced by stage of ripening. *Food Chemistry* . p54 : 305-309.
- Akidi A., (2013) : Etude technico-économique de la filire dattes en Algérie ; cas de la wilaya de Biskra Mém Licence en Agronomie, Dép d'agronomie, Univ Biskra 52p.
- Ali, K. T., Fine, N. C., Faraj, M. & Sarsam, N. H. (1956). The use of date products in the ration of the lactating dairy cow and the water buffalo., *Indian J. V et Sci* (26): 193–201.
- Al-Shahib W et Marshal R .J. (2003) : The fruits of the date palm :it's possible use as the best food for the future ? *International Journal of Food Science and Nutrition*, 54 (4) : 247-259.
- Amorsi G., (1975) : Le palmier dattier en Algérie. *Options Méditerranéennes* No25 Tlemcen 126p.
- Asif M. I., A. O. Al-Tahir and A.S. Al-Ghamdi, (1987). Variation in date palm pollen grain size. *Hort. Science*, 22: 658.

Références Bibliographiques

- Aziez W., (2007) : Etude comparative de trois pieds mâles du palmier dattier(*Phoenix dactylifera* L.) et l'impacte de leurs pollens sur quelque caractéristiques physico-chimique des dattes dans la région d'El-maleh (Biskra). Mém Ing, Dép d'Agronomie, Univ Biskra 125p.

-B-

- Banat, F., Al-Asheha, S. & Al-Makhadmeha, L. (2003). Evaluation of the use of raw and activated date pits as potential adsorbents for dye containing waters., *Process Biochemistry* 39 (2): 193-20.
- Barreveld, W. H. (1993). Date palm products. *FAO Agricultural Services Bulletin*, pp:101.
- Belguedj, M. (2001). Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies sud-Est Algériens. Ed. Dossier– Document – Débat, pp : 289.
- Belguedj, M. (1996). Caractéristiques des cultivars de dattiers du Sud-Est du Sahara algérien. Vol I. Conception et réalisation : Filière "Cultures pérennes" de l'ITDAS, pp : 67.
- Ben Abdallah A., (1990) : La phœniciculture. Ed. Options Méditerranéennes. Série A. No11.p 105-120.
- Ben Ouamane O, Ouamane S, (2011) : Contribution à la caractérisation hydro-pédologique et de la qualité de datte de jeunes rejets "Deglet Nour" (Cas de la région d'EL Ghrous) Mém : Ing, dép : Agro, Univ de Biskra, 89p.
- Bennamia, A. & Messaoudi, B. (2006). Contribution à l'étude de la composition des dattes « Deglet Nour » et « Ghars » dans le pédo-paysage de la cuvette de Ouargla, mémoire de diplôme d'études supérieur en biochimie, Ouargla, pp : 4-5-6.
- Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N. & Attia, H. (2004a). Date seeds: Chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction., *Food Chem* (84): 577–584.
- Bessas, A. Benmoussa, L. & Kerarma, M. (2008). Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université Djillali Liabes. Sidi belabbas. P.137.

Références Bibliographiques

- Bouchelta, C. Mohamed, S. M. Odile, B. & Jean-pierre, B. (2008). Preparation and chracterization of activated carbon from date stones by physical activation with steam. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 82, 70-77.
- Boughouna, N. (1988). Essai de production de vinaigre à partir de déchets de dattes. Mémoire de Magister, INA. El Harrach, Alger, pp : 82.
- Bouza, C et *al.* (2007). Unplanned extubation in orally intubated medical patients in the ICU: a prospective cohort study *13 (6):* 315–316.
- Buelguedj M., (1996). Caractéristiques des cultivars de dattiers du Sud-est du Sahara algérien Vol, 1. Ed. Filière culture pérenne de l'ITDAS. Biskra.

-C-

- Chevalier A., (1952). Recherches sur les Phoenix, africains R.B.A., mai – juin.
- Chevalier A., (1930). Le dattier en Mauritanie. *Rev. Bot. appl.* 10: 372 – 376.

- D-

- Daas S., (2009) : Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) et évaluation "in vitro" de leur activité biologique. Thèse de Magister, Dép de Biologie , Univ : Batna. 95p
- Dammak, I., Ben Abdallah, F., Boudaya, S., Besbes, S., Keskes, L., EL Gaid, A., Turki H., Attia, H. & Hentati, B. (2007). Date seed oil limit oxidative injuries induced by hydrogen peroxide in human skin organ., *Bio Factors* (29): 137-145.
- Devshony, S., Eteshola, A. & Shani, A. (1992). Characteristics and some potential application of date palm (*Phoenix daclifera* L.) seeds and seed oil., *J. Am. Oil Chem. Soc* (69): 595–597.
- Djerbi, M. (1994). Précis de phoéniculture. FAO, 192 p.

-E-

Références Bibliographiques

- El Nemr, A., Khaled, A., Abdelwahab, O. & El-Sikaily, A. (2007). Treatment of wastewater containing toxic chromium using new activated carbon developed from date palm seed., *J. Hazard. Mater.* Doi : 10.1016.
- El-Shazly, K., Ibrahim, E. A., & Karam, H. A. (2009). Nutritional Value of Date Seeds for sheep. *J Anim Sci* 1963.22 p: 894-897.
- Espiard, E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Techniques et Documentation Lavoisier, Paris. pp : 147-155.
- Estanove, P. (1990). Note technique : Valorisation de la datte. In Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. Ed. CIHEAM. pp : 301-318. FAO, 2003. Agrostistics. Database. Rome

-F-

- Favier, J. C., Ireland-Ripert, J. & Feinberg, M. (1993). Répertoire général des aliments Tome 4. Table de composition des fruits exotiques: fruits tropicaux et fruits d'Afrique.

-G-

- Girard J., (1965) : l'évolution de la datte au cours de sa croissance et de sa maturation.
- Gualtieri M. & Rapaccini S.(1994). Date stones in broiler's feeding. In : Technologie de la datte. E.GRIDAO.Montpellier. 35 p.
- Guiraud, J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD Paris France. PP 431-652.

-H-

- Haimour, N. M. & Emeish, S. (2006). Utilization of date stones for production of activated carbon and phosphoric acid., *Waste Management* (26): 651-660.
- Hamada, J. S., Hashim, I. B. & Sharif, F. A. (2002), Analyse préliminaire analysis and potential uses of date pits de date en nourriture., *Nourriture Chem* (76) :135-7.
- Hanachi, S., Khitri, D., Benkhalifa A. et Brac de Perrière, R.A. (1998). Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. 225 p.

Références Bibliographiques

- Hussein, A. S. & Alhadrami, G. A. (2003). Effet of Enzyme Supplementation and diets containing Date pits on Growth and feed Utilization of Broiler Chicks., *Agricultura and Marine Science* 8(2): 67-71.

-I-

- I.T.D.A.S, (2007) : Orientations générales sur la conduite de votre palmeraie DFRV Biskra 2-25p.
- I.P.G.R.I, (2005). Descripteurs du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Future Harvest. 71p.
- I.TA. (1977). Laboratoire du sol : méthode d'analyses physiques et chimiques du sol et eau. Mostaganem.106 p.
- Idder A, (1991) : Aperçu bioécologique sur *Perlatiria blanchardi* (Homoptera, diaspidea) en palmeraie à Ouargla et utilisation de son ennemi (*Phareseymnus semiglobosus* Karash) dans le cadre d'un assai de lutte biologique. Thèse Magister I.N.A., Alger , 102p

-J-

- Jaccot, B.et Campillo, B. (2003). Nutrition humaine. Ed. Masson, Paris. p311
- Jassim, S. A. A. & Naji, M. A. (2010). In vitro evaluation of the antiviral activity of an extract of date palm (*Phoenix dactylifera* L) pits on a pseudomonas phage., *Evid-Based Compl. Alt. Med* (7): 57–61.

-K-

- Khenfar B., (2004) : contribution à l'étude de quelques caractéristiques morphologiques de quatre cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) dans la région Droh (Biskra) .Mém ing. Dép d'agronomie .Univ , Batna. 78p.
- Khettache H., (2003) : Contribution à l'étude de quelques paramètres morphologiques du pied et du fruit de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) dans la région d'Outaya (Wilaya de Biskra). Mém. Ing. Dép. Agr. Univ. Batna.86p.

-M-

Références Bibliographiques

- Maatallah S., (1970) : Contribution à la valorisation de la datte algérienne .Essais sur les problèmes du développement agricole .E.N.S.A, EL-HARRACH, Algérie,135p.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P., (2005) : Phenolic profile and antioxydant activity of the algerien ripe date palm fruit ((Phoenix dactylifera L.) :Food chemistry 411-426.
- Marchal J., (1984) : Le palmier dattier, végétal dans le control de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales. Ed, Lavoisier, Paris 458, 272p.
- Mebarki H., (2000) : Contribution à l'étude de quelques caractéristiques morphologiques du pied et du fruit de quelques cultivars de palmier dattier (Phoenix dactylifera L.) dans la région de Doucen (Wilaya de Biskra). Mém. Ing. Dép. Agr. Univ. Batna.62p.
- Meligi, M.A et Sourial, G.F, (1982). Fruit quality and general evaluation of some Iraqi date palm cultivars grown under conditions of barrage region
- Messar E.M., (1996) : Le secteur phœniciculture algérien : situation et perspectives à l'Horizon 2010. Ed. Options Méditerranéennes. Sérié A. No28 : 23-44.
- Munier., (1973).-Le palmier dattier .G.P.Maisonneuve et la rose, Paris, 221p

-N-

- Noui, Y. (2007). Caractérisation physico-chimique comparative des deux principaux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Mémoire de Magister. Option : Technologie Alimentaire, Université de Boumerdes, pp: 60.

-O-

- Osman, M. F Ben zayed, A. A. & Alhadrami, G. A. (1999). Sulfuric acid treated date pits as diatary ingredients in tilapia oreochromis niloticus diets., Bioresource Tzchnology 620-627.

Références Bibliographiques

- Ould el hadj, M. D., Hadj-Mahammed, M. & Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla. Courrier du Savoir – N°03. , pp: 47-51.
- Ould El Hadj, M. D., Sebihi, A. H. & Siboukeur, O. (2001). Qualité Hygiénique et Caractéristique Physico-Chimique du Vinaigre Traditionnel de Quelques Variétés de Dattes de la Cuvette de Ouargla., Energ. Ren : Production et Valorisation-Biomasse 87-92.

-R-

- Rahman, M. S. & Al-Kharusi, N. (2004). Date coffee. Potential of date pits: functionality and health benefits., Horizon (35): 5-77.
- Rahman, M. S., Kasapis, S., Al-Kharusi, N. S. Z., Al-Marhubi, I. M. & Khan, A. J.(2007). Composition characterization and thermal transition of date pits powders., J. Food Eng (80): 1-10.
- Reynes, M., Bouabidi, H., Piombo, G. & Rirterucci, A. M. (1994). Caractérisation des princip variétés de dattes cultivées dans la région du Djerid en Tunisie., Fruits (49): 189-198.

-T -

- Touzi, A. (2005). Essai de la croissance de la le vure Saccharomyces cerevisiae avec substitution de la source d'azote produit en Algérie. Memoire d'ingenieur I.N.A.T.A. Constantine, pp: 90.

-w-

- Wang, N. & Daun, J. K. (2006). Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (*Lens culinaris*)., Food Chem 95 (3): 493-502.

-Y-

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

❖ Sites internet :

www.argalis.com

Annexe

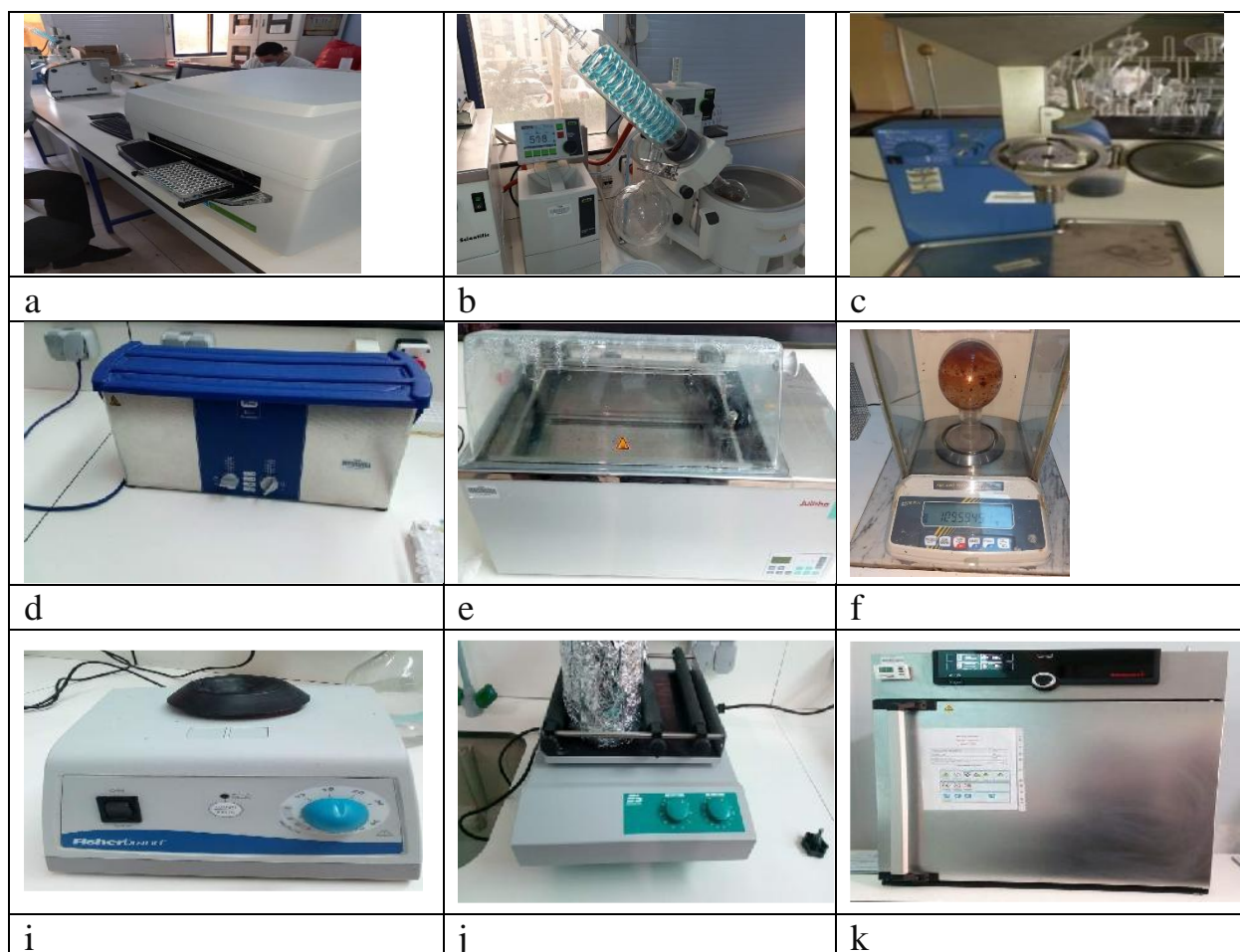


Figure Appareils utilisés pour la réalisation des protocoles expérimentaux.



Figure Les trois extraits de noyaux (photo personnelle)



Figure Le sonicateur à tige (photo personnelle)