



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



UNIVERSITÉ ECHAHID HAMMA LAKHDAR
EL OUED

FACULTÉ DES SCIENCES ET DE TECHNOLOGIE

Mémoire de fin d'étude

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences et Technologie

Filière: Génie des Procédés

Spécialité: Génie chimique

Thème

*Optimisation des conditions d'extraction des
composés phénoliques par ultrason des feuilles de
phoenix dactylifera L*

Présenté par: ADAIKA Meriem
RAMDANI Bichira

Devant le jury composé de :

Président: Mr TAMMA Noureddine MAA Université d'El- Oued

Examineur: Mr REBIAI Abdelkerim MAA Université d'El- Oued

Rapporteur: Mr. LAOUINI.Salaheddine MAC Université d'El- Oued

Année universitaire 2014 – 2015

REMERCIEMENTS

Nous remercions dieu tout puissant qui nous a donnés la force et la foi pour mener à bien ce projet .

Au terme de cette étude , nous tenons à adresser nos profondes reconnaissances à toutes nos familles

qui nous ont soutenues , aidées et encouragées tout au long de ce travail .

Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances au professeur :

Monsieur : **LAOUINI Salah Eddine**

tout d'abord pour nous avoir fait confiance et pour nous avoir inspirer le sujet ensuite pour ses conseils précieux, ses orientations judicieuses et ses directives efficaces , ainsi que

pour les réflexions avisées qu'elle nous ont apportées .

nous tenons a remercier les membres de jury qui vont chargé d'examiner et corriger ce mémoire **Monsieur TAMMA Nouredine** pour avoir accepter de présider le jury et **Monsieur REBIAI Abdelkerim** pour accepter être examinateur ce travail, nous vous remercions énormément et nous sommes très heureuses et fières de présenter notre travail devant des professeurs ainsi compétents comme vous, merci beaucoup encore.

nous remercions ainsi le Professeur **Monsieur LANEZ touhami** pour nous avoir donner l'autorisation de prendre les produits nécessaires pour notre projet de son laboratoire de recherche

Un grand merci pour le professeur de biologie, Madame **ADAIKA aicha**, pour son aide précieux et ses orientations bien visées, elle a été toujours disponible tout au long de ce travail.

Nous adressons aussi nos remerciements à l'équipe de laboratoire de chimie à l'université d'Eloued surtout, l'ingénieur de laboratoire **Madame KAROUI radja, M^{elle} BERRA djamila , Monsieur Tliba ali , DIA Ouahida , HAMMAMI hadia.**

Nous remercions vivement :

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux et celles qui se reconnaîtront, pour leur contribution à la réalisation de ce travail: surtout **les enseignants** de département de chimie et biologie; nous adressons une pensée spéciale, pour leur précieuse aide.

Résumé

Ce travail comprend une étude sur des feuilles de palmier dattier "*Phoenix dactylifera L*", qui représente une grande importance pour la vie de la population du " Oued Souf", Il a été utilisé depuis des siècles comme un médicament contre allergie, l'inflammation, la constipation et gastro protecteur; ils ont aussi une haute antibactérien et l'activité anti-oxydante.

Ce travail a pour but d'étudier et optimiser la méthode d'extraction des polyphénols a partir des feuilles de palmiers par l'ultrason. En effet, pour améliorer les conditions d'extraction des polyphénols, nous avons utilisé plusieurs fractions (échantillon /solvant) afin de choisir le meilleur rapport et le temps d'extraction nécessaire qui nous donne meilleurs extraction.

Les résultats obtenus montrent que le meilleur fraction échantillon /solvant est de (1/9) et l'extraction optimale des polyphénols se fait dans un temps de 30 min et 50 min.

L'extrait de feuilles de palmiers a donné un très bon pouvoir antioxydant en utilisant le DPPH et PPM avec le fraction 1/9 et dans un temps d'extraction de 30min.

Des études supplémentaire vise a évaluer ces résultats en utilisant des autres paramètres et techniques d'extraction qui peuvent donner un meilleurs rendement.

Mots clés: feuilles de palmiers dattier(*phoenix dactylifera L*), extraction par ultrason, optimiser, polyphénols, antioxydant, **DPPH**.

Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
ATP	Adénosine-5'-triphosphate.
AMP	Adénosine mono phosphate.
C éq	Concentration Equivalent
CT	Tannins Condensé
CV	Cyclic Voltammetry
DPPH	1,1- Diphenyl-2Pierylhydrazyl
OH	Radical Hydroxyle
FLT	Flavanol Totaux
FVT	Flavonoïdes Totaux
LDL	Low Density Lipoprotein
MDA	Malondialdéhyde
pH	Potentiel d'hydrogène
PPM	Phosphomolybdate
PPT	Polyphénols Totaux
RHG	Rhamnose-Glucose
RL	Radicaux Libres
ROS	Reactive Oxygen Species.
SOD	Superoxyde Dismutase
UV	Ultra Violet
EAG	Equivalent d'Acide Gallique
Ms	Matière Sèche
EQ	Equivalent Quercétine
ER	Equivalent de Rutine

Liste du figure

Figure I.1	<i>Phoenix Dactylifera L</i>	7
Figure.I.2	Figuration schématique du palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L</i>)	10
Figure.I.3	A Jeune feuille d'un plant issu de semis de graine. B: une palme (feuille) d'un palmier dattier adulte	11
Figure I.4	Spathes, inflorescences et fleurs du palmier dattier	13
Figure I.5	Morphologie et anatomie du fruit et de la graine du palmier dattier	14
Figure .II.1	Effets biologiques des polyphénols	23
Figure .II.2	Structures chimiques de base d'acides phénoliques	27
Figure .II. 3	Squelette de base des flavonoïdes d'après	28
Figure. II.4	Famille des flavonoïdes d'après	28
Figure .II.5	Structure chimique de tannin hydrolysé	30
Figure .II.6	Structure chimique de tannin condensé	31
Figure.III.1	UV-visible (photo original)	43
Figure.III.2	L'échantillon des feuilles de <i>Phoenix Dactylifera L</i> (photo original)	45
Figure.III.3	Extraction par bain ultrason (photo original)	46
Figure.III.4	évaporateur rotatif sous vide (photo original)	47
Figure.III.5	Protocole utilisé pour l'extraction	47
Figure.III.6	Réduction du radical libre DPPH.....	50
Figure.IV1	Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique (polyphénoles).....	55
Figure.IV.2	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux	55
Figure.IV.3	Courbe d'étalonnage de Rutine (flavanols).....	56
Figure.IV.4	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique(PPM).....	56
Figure.IV.5	Rendement d'extraction des composés phénoliques dans solide/liquide.....	57
Figure IV.6	Composition en composés phénoliques des feuilles <i>phoenix dactylifera L</i>	59
Figure IV.7	les courbe de différentes extrais de concentration en fonction IP%	61
Figure.IV.8	Rendement d'extraction des compose phénoliques de 20 à 60 min	62
Figure IV.9	Composition en composés phénoliques l'extraction <i>phoenix dactylifera L</i>	65

Liste de tableau

Tableau.I.1	Classification de l'espèce <i>Phoenix dactylifera</i> L	8
Tableau I.1	Classification des composés phénoliques	25
Tableau II.2	Activités biologiques des composés phénoliques.....	32
Tableau.IV.1	Rendement d'extraction des composés phénoliques dans solide/liquide... ..	57
Tableau.IV.2	La teneur des polyphénols d'extrait des feuilles de <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	58
Tableau .IV.3.	La teneur des flavonoïde d'extraction des feuilles de <i>Phoenix dactylifera</i> L	58
Tableau IV.4.	La teneur des flavanol dans des feuilles <i>Phoenix dactylifera</i> L	59
Tableau IV.5.	Résultat d'évaluation d'activité antioxydant totale	60
Tableau IV.6	Valeurs des IC ₅₀ du DPPH pour les extraits	61
Tableau IV.7	Les rendements en extraits obtenus à partir de la plante.	62
Tableau.IV.8	Taux des polyphénoles totaux d'extrait <i>phoenix dactylifera</i> L	63
Tableau.IV.9	La teneur des flavonoïde dans d'extrait <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	63
Tableau.IV.10	La teneur des flavanols dans d'extrait <i>Phoenix dactylifera</i> L... ..	63
Tableau IV.11	Résultat d'évaluation d'activité antioxydant totale.....	64
Tableau.IV.12	La teneur des DPPH dans d'extraction <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	65

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	2
Partie Bibliographique	
Chapitre I Généralités et présentation de <i>Phoenix Dactylifera L</i>	
I.1. Introduction.....	6
I.2. Quelques mots d'histoire	6
I.3. Situation de la culture du palmier dattier en Algérie	7
I.4. Etude ethnobotanique de <i>Phoenix dactylifera L</i>	8
I.4.1. Taxonomie et systématique	8
I.4.2. Description Generale Des Organes Du Palmier Dattier	8
A. Le système racinaire	9
B. Le tronc ou stipe	9
C. Les bourgeons	9
D. Les feuilles.....	11
I.4.3. L'Appareil de reproduction	12
I.4.3.1. Les spathes ou inflorescences	12
I.4.3.2. Les fleurs	12
I.4.3.3. Le fruit	12
I.4.3.4. Cycle végétatif	15
I.5. Exigences climatiques du palmier dattier	16
I.5.1. Les exigences climatiques	16
I.5.2. Les exigences édaphiques	17
I.5.3. Les exigences hydriques	17
I.6. Répartition géographique du <i>Phoenix dactylifera L</i> en Algérie	17
I.7. Caractéristiques morphologiques des dattes des variétés sélectionnées	18
Référence.....	19
Chapitre II Les Composés Phénoliques et l'activité antioxydant	
II. Les composés phénoliques.....	21
II.1. Généralités	21
II.1.2. Biosynthèse	21
II.1.3. Stabilité des polyphénols	22
II.1.4. Mécanisme d'action d'un antioxydant	22
II.1.5. Effets biologiques des polyphénols	22
II.1.6. Propriétés thérapeutiques des polyphénols	23
II.1.6.1. Etudes épidémiologiques et propriétés biologiques in vitro	23
II.1.6.2. Effet antiallergique	24
II.1.6.3. Effet anti-inflammatoire	24
II.1.6.4. Effet anti-ulcère	25

II.1.6.5. Effet anti-cancer.....	25
II.1.6.6. Autres activités biologiques	25
II.1.7. Classification des composés phénoliques	25
II.1.7.1. Composés phénoliques simples	27
II.1.7.1.1. Acides phénoliques	27
II.1.7.1.2. Flavonoïdes	27
II.1.7.1.2.1. Les flavonols (hydroxy-3-flavone)	28
II.1.7.1.2.2. Les flavones	29
II.1.7.1.2.3. Les isoflavones	29
II.1.7.1.2.4. Les flavanones.....	29
II.1.7.1.2.5. Les flavanes	29
II.1.7.1.2.6. Les anthocyanes	29
II.1.7.2. Composés phénoliques complexes	30
II.1.7.2.1. Tannins hydrolysés	30
II.1.7.2.2. Tannins condensés	30
II.1.8. Intérêt des composés Phénoliques	31
II.1.8.1. Rôle physiologique	31
II.1.8.2. Rôle technologique	31
II.1.8.3. Rôle biologique	32
II.2. Activité antioxydantes	33
II.2.1. Introduction	33
II.2. Définition	33
II.2.3. Les sources des antioxydants	32
II.2.3.1. Les antioxydants synthétisés	34
II.2.3.2. Les antioxydants naturels	34
II.2.3.2.1. Les vitamines	34
II.2.3.2.2. Les composées phénoliques	35
II.2.4. Les utilisations des antioxydants	36
Références	37
Partie Expérimentale	
Chapitre III Méthodes et Matériels	
III. Matériels et Méthodes	43
III.1. Matériels	43
III.1.1. Matériels de laboratoire.....	43
III.1.1.1. La spectrophotométrie UV-visible.....	43
III.1.2. Matériel végétal	45
III.1.2.1. Préparation des échantillons	45
III.1.2.2. Optimisation de l'extraction des polyphénols	45
III.2. Méthodes	45
III.2.1. Protocole utilisé pour l'extraction	45

III.2.2.dosage des composées phénoliques	48
III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)	48
III.2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)	48
III.2.2.3. Dosage des flavanols totaux	49
III.2.3. Test d'évaluation de l'activité antioxydante totale (PPM)	49
III.2.4. Test du 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•)	50
Référence	52
Chapitre IV Résultats et Discussions	
IV.Résultats et discussion	54
IV.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	54
IV.2.Dosage des composés phénoliques par la méthode colorimétrique	54
IV.2.1. Evaluation des concentrations équivalentes	54
IV.2.2. Courbes d'étalonnages des dosages de PPT,FVT, FLT	54
IV.2.2.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage de polyphénols totaux (PPT)	54
IV.2.2.2.Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonoïdes totaux (FVT)	55
IV.2.2.3.Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonols totaux (FLT)	55
IV.3. Test d'évaluation d'activité antioxydant totale (PPM)	56
IV.4. Influence des fraction solide/liquide	57
IV.4.1.Rendement	57
IV.4.2. Résultats de compositions phytochimiques	58
IV.4.2.1. Polyphénols totaux	58
IV.4.2.2.Flavonoïdes totaux	58
IV.4.2.3.Flavonols totaux	58
IV.4.2.4. Composition d'extraction phénoliques	59
IV.4.3. Test d'évaluation d'activité antioxydant totale (PPM).....	60
IV.4.4. Test d'évaluation d'activité antioxydante DPPH.....	69
IV.5.Influence des temps d'extraction	62
IV.5.1.Rendement.....	62
IV.5.2. Résultats de compositions phytochimiques	62
IV.5.2.1.Taux en polyphénols totaux	62
IV.5.2.2.Flavonoïdes totaux	63
IV.5.2.3.Flavonols totaux	63
IV.5.3. Test d'évaluation d'activité antioxydant totale (PPM)	64
IV.5.4. Test d'évaluation d'activité antioxydante DPPH	64
Discussion	66
Conclusion	68

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.[1]

Ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé.[2]

Selon des statistiques récentes, on estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle [3]: obtenus par héli-synthèse, à partir d'un pharmacophore ou par modification des produits naturels, composés issus des biotechnologies, vaccins, composés d'origine végétale, microbiologique ou animale. Seul un tiers des médicaments commercialisés possède donc une origine purement synthétique [4],

L'extraction bruts, naturels de ces composés et l'isolation à partir d'espèces de plantes utilisées en médecine traditionnelle peuvent être des ressources de nouveaux médicaments.[5] Ce qui fait que les plantes sont des réservoir de molécules bioactives encore peu explorées. Les substances naturelles et les plantes en particulier représentent une immense source des composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes, flavonols, tannin condensé...)[5].

De nombreuses plantes, alimentaires ou médicinales, renferment des constituants antioxydants. L'apport régulier en phytonutriments possédant des capacités anti-oxydantes significatives est associé à une faible prévalence de maladies liées au stress oxydatif (cancers, maladies cardiovasculaires et athérosclérose)[6] .

Le but de cette étude consiste à renforcer la connaissance phytochimique des extraits des feuilles de *Phoenix dactylifera L* à savoir : les phénols totaux , les flavonoïdes, flavanols ,et à mettre en évidence leurs activités antioxydantes en vue de leur utilisation ultérieure dans le domaine pharmaceutique ou industriel.

Notre travail a été divisé en quatre chapitres:

-Le premier chapitre concerne une Généralité sur le *phoenix dactylifera L* et une description détaillée de la plante étudiée.

-Le deuxième chapitre est consacré pour les composés phénoliques et leur intérêt: l'évaluation de l'Activité antioxydante .

-Le troisième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- L'extraction solide-liquide par ultrason.
- Dosage des Polyphénols totaux, des flavonoïdes et des flavanols.
- Test d'évaluation d'activité antioxydante PPM et DPPH.

- Enfin dans la quatrième chapitre nous présentons les résultats obtenus et leurs discussions ainsi qu'une conclusion finale.

Référence

- [1] Mme Moulay Yamina (2012) , Mémoire de Magister. Investigation Phytochimique de l'Acacia arabica Aux propriétés antioxydantes et inhibitrices, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- [2] Hirasu, K; Takemasa, M; (1998). Spice science and technology. New York: Marcel Dekker.
- [3] Morel S. Thèse de doctorat: Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae). Université d'Angers, N° 1031; 2011.
- [4] Verpoorte R, Cotin A, Memelink J(2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews*; 1 (1):13-25
- [5] Karmakar I, Dolai N, Saha P, Sarkar N, Bala A, Kanti P. (2011). Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental medicine*;11:221–228.
- [6] Velioglu ,Y.S; Mazza, G; Gao ,L; Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in; selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*, 46:4113–17.

Chapitre I

Généralités et présentation de Phoenix Dactylifera L

I.1. Introduction

Dans le Sahara Algérien, le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*, *Phoenyx dactylifera L*) est le pilier des écosystèmes oasiens ou il permet de limiter les dégâts d'ensablement, joue un rôle protecteur contre le rayonnement solaire intense pour les cultures sous-jacentes (arbres fruitiers, cultures maraichères et céréales). Par sa présence dans ces zones désertiques, les diverses formes de vies animales et végétales, indispensables pour le maintien et la survie des populations, sont possibles.

Il a de plus un rôle socioéconomique majeur pour les populations de ces régions pour lesquelles il fournit d'une part un fruit, la datté dont les qualités alimentaires sont indéniables et qui constitue une source de revenus très appréciables pour plus de 100000 familles du Sud Algérien avec 9 % des exportations agricoles, d'autre part une multitude de sous produits (culinaire, artisanal et menuiserie...).

I.2. Quelques mots d'histoire

Il y a quelques millénaires, les dattes représentaient déjà un fruit d'excellence chez les Mésopotamiens et les Egyptiens des temps pharaoniques. *Phoenix dactylifera* est le nom latin du palmier-dattier, le vocable voyageur qui viendrait peut-être de « Phénicie » ? En français, le nom du fruit, « datté », remonterait au XIII e siècle. De sa racine grecque dactylos, on retient l'idée du «doigt», par référence à la forme du fruit, d'où le nom d'une des variétés, les Deglet Nour ou « doigts de lumière », métaphore pour dire sa transparence, sa porosité aux rayons du soleil [1]. C'est dans le bassin de l'Euphrate, où furent créées les plus vieilles oasis, que se concentreraient les origines géographiques de l'arbre. C'est là qu'il y aurait été domestiqué et cultivé. Plus précisément, c'est dans le Schott al Arab, entre le Tigre et l'Euphrate, ou peut-être même en Egypte, dans la vallée du Nil, qu'auraient été inventées ses méthodes de culture. Certains voient dans les Sumériens les initiateurs en ce domaine. De ces régions, il s'est répandu à l'ouest dans toute l'Afrique du Nord et vers l'est jusqu'en Inde. Le palmier dattier (Figure.I.1) serait vraisemblablement dans ces régions la première espèce végétale domestiquée par l'homme et il est un des arbres fruitiers les plus cultivés au monde [1]. De la famille des Acéracées (Palmacées), c'est l'arbre des régions semi-arides et arides, qui offrent malgré tout des ressources en eau suffisantes et constantes.



Figure.I.1. *Phoenix Dactylifera L*

I.3. Situation de la culture du palmier dattier en Algérie:

L'Algérie est un pays phoenicicole classe au sixième rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de culture avec 160 000 ha et plus de 2 millions de jardins et sa production annuelle moyenne de dattes de 500000 tonnes. Le palmier dattier en Algérie est établi en plusieurs oasis réparties sur le Sud du pays où le climat est chaud et sec (zone saharienne). Sa culture s'étend depuis la frontière Marocaine à l'ouest jusqu'à la frontière tuniso-libyenne à l'est et depuis l'Atlas Saharien au nord jusqu'à Reggane (sud-ouest), Tamanrasset (centre) et Djanet (sud-est). Près d'un millier de cultivars a été inventorié et les trois régions principales de culture se distinguent sur le plan de la diversité génétique. A cette catégorie, il faut ajouter un grand nombre de pieds francs qui poussent au hasard dans les oasis et qui représentent une source appréciable pour de nouvelles sélections de cultivars appréciables.

La distribution des cultivars principaux montre une répartition est ouest très marquée. Une cinquantaine de cultivars se retrouvent dans deux ou trois régions mais la majorité des cultivars reste endémique à leur région ou à leur zone d'origine.

À l'est, le cultivar Deglet Nour, dont les dattes sont destinées à l'exportation vers les pays du Nord, continue à prendre de l'ampleur et frôle aujourd'hui les 50 % de la population des palmiers dattiers plantés.

Les cultivars produisant des dattes sèches (Degla Beida, Tinnaser) sont exportés vers les pays d'Afrique subsaharienne. Parfois, les dattes comme celles du cultivar Hamraya sont exportées vers la Russie ou la Chine. Parmi les cultivars émergents, Tafezwin est exportable vers les pays d'Amérique du Sud, Bentqbal, en mode congelé, est très renommé sur le marché local à Ghardaïa (est). Agaz, datte primeur produite au Tidikelt (ouest), se commercialise bien sur les marchés de Ouargla et de Ghardaïa.

I.4. Etude ethnobotanique de *Phoenix dactylifera L*:

I.4.1. Taxonomie et systématique:

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera L.* [2]. *Phoenix* dérive de *Phoinix*, nom du dattier chez les Grecs de l'antiquité, qui le considéraient comme l'arbre des phoeniciens ; *dactylifera* vient du latin *dactylus* dérivant du grec *dactulos* signifiant doigt, en raison de la forme du fruit (Munier, 1973). Selon Munier (1973), c'est une plante dioïque, c'est-à-dire existe des dattiers mâles (Dokhar) et des dattiers femelles (Nakhla). La classification du palmier dattier

Tableau.I.1. Classification de l'espèce *Phoenix dactylifera L* [2]

Embrenchement	Phanérogames
Sous- Embrenchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Groupe	Phoenocoides
Oredre	Palmales
Famille	Palmacées
Sous-Famille	Coryphoideae
Genre	Phoenix
Espece	Phoenix Dactylifera

I.4.2. Description Generale Des Organes Du Palmier Dattier :

Le Palmier Dattier est une plante monocotylédone à croissance apicale dominante. Le diamètre du tronc de l'arbre demeure généralement stable sous les mêmes conditions à partir de l'âge adulte. On distingue 3 parties : un système racinaire, un organe végétatif composé du tronc et de feuilles et un organe reproductif composé d'inflorescences mâles ou femelles (Figure .I.1). Les valeurs quantitatives et qualitatives des organes végétatif et reproductif sont variables. Il semble possible de caractériser les cultivars par la comparaison de la plupart de ces paramètres qui forment des index taxonomiques différentiels.

A. Le système racinaire:

Le système racinaire du palmier est dense de type fasciculé, formé de plusieurs types de racines dont le diamètre ne dépasse pas 1,5 cm et qui émergent partiellement au dessus du niveau du sol à une hauteur allant jusqu'à 50 cm de la base du tronc. Ces racines, dépourvues de poils absorbants, sont structurées comme suit: d'abord les racines du premier ordre (auxirhyzes), qui émettent des racines du deuxième ordre (mésorhyses), donnant naissance à leur tour à des racines de troisième ordre (brachyrhyses). Toutes ces racines peuvent présenter des pneumatodes qui sont des petites plaques verrues et farineuses placées sur les racines et qui jouent un rôle respiratoire. Munier (1973) puis Oihabi (1991) [3], distinguent quatre zones du sol (I, II, III et IV) occupées par les racines. L'ensemble de ces racines est lié directement, avec un système vasculaire au niveau de la base du tronc. Leur nombre équivaut généralement, à celui des vaisseaux. Le développement et l'importance du système racinaire (quantité, densité, longueur...) dépendent du mode et du système de culture, des caractéristiques physico-chimiques et agronomiques du sol, de la profondeur de la nappe phréatique et probablement du cultivar et du système de culture. Verticalement, les racines prennent une longueur pouvant aller jusqu'à 8 et parfois 15 m, en profondeur. Nous avons trouvé des racines du palmier prolongeant la hauteur d'un puits de 10 m de profondeur [4]. Dans les sols fertiles à humidité régulièrement favorable, les racines se concentrent généralement dans un horizon de 1 à 1,5 m. Dans le cas du cultivar Deglet Nour [5] a rapporté que le système racinaire peut s'étaler sur une superficie qui peut atteindre 167 m². En profondeur, les racines d'un arbre adulte peuvent épuiser l'eau à plus de 8 m. Horizontalement, les racines se rencontrent et forment un réseau très dense en cas de plantations plus ou moins rapprochées, et peuvent se prolonger jusqu'à 30 m et plus en cas de palmiers solitaires [4].

B. Le tronc ou stipe :

Le tronc cylindrique appelé aussi stipe ou tige, est non ramifié, lignifié et de couleur marron brun. Le tronc est généralement, monopodique et recouvert à sa surface par la base des palmes coupées cornafs, recouvertes à leur tour par un fibrillum 'lif'. Ces cicatrices de la base des feuilles restent visibles pendant des années. Quelques fois, certains cultivars peuvent avoir une forme du tronc tronconique, mais jamais ramifié. Sa hauteur peut atteindre plus de 30 mètres [6].

C. Les bourgeons :

A l'aisselle de chaque palme, se trouve un bourgeon axillaire qui peut se développer pour donner naissance à un rejet, à la base du stipe ou aérien attaché au tronc, dénommé vulgairement 'rekeb'' dans la partie basale de l'arbre ou une inflorescence dans la partie supérieure. La

plupart des bourgeons axillaires végétatifs finissent par avorter durant la phase juvénile du palmier. Le bourgeon apical ou terminal est responsable de la croissance en hauteur du palmier et du développement des feuilles et de bourgeons axillaires. Grâce aux très faibles variations de température jour et nuit au niveau de ce bourgeon et aux différences de température qui surgissent pendant les saisons froides et chaudes (allant jusqu'à 15°C) par rapport à l'extérieur du bourgeon, ce dernier permet au palmier dattier de tolérer et de s'adapter à l'hostilité des conditions sahariennes [13].

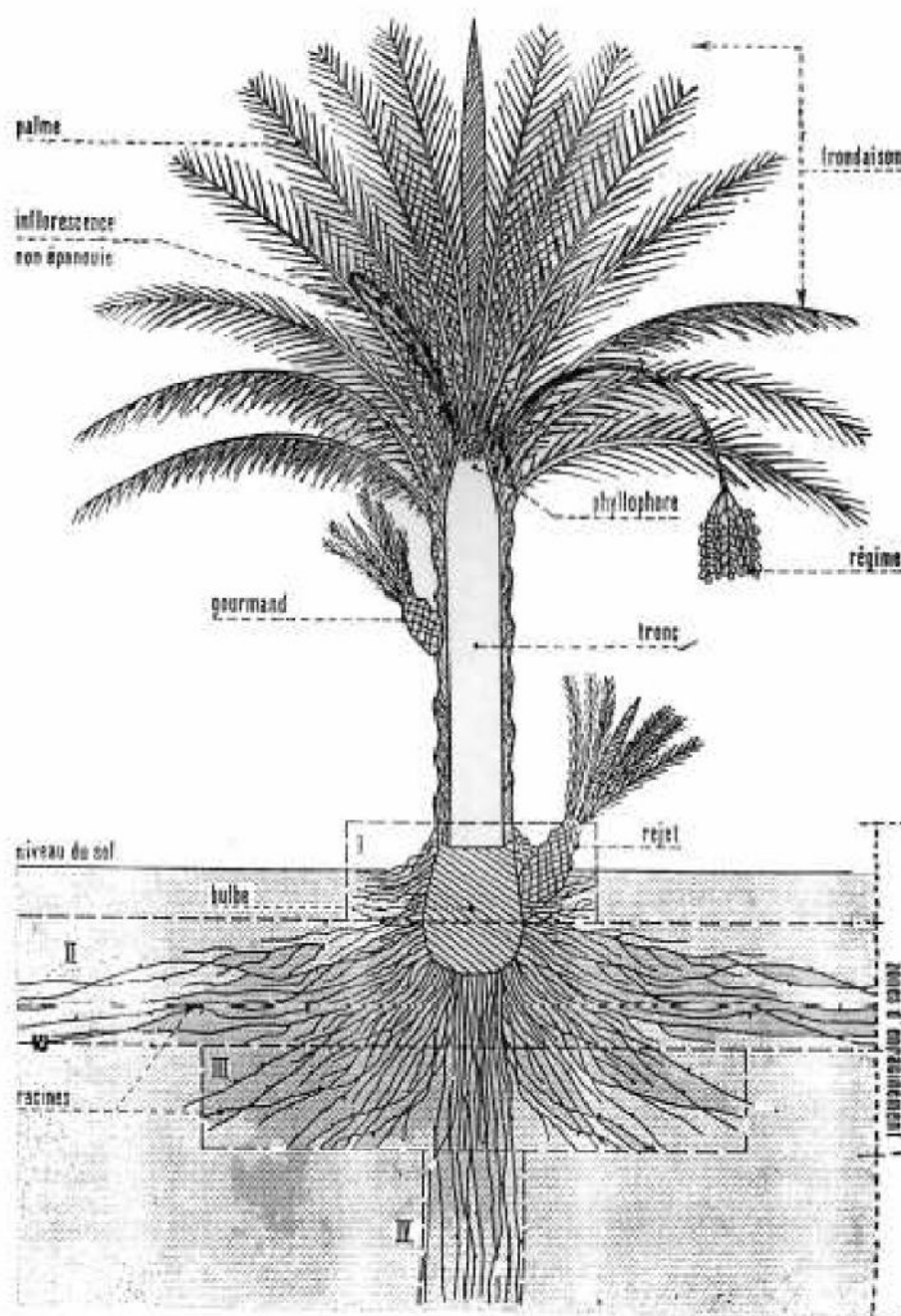


Figure .I.2. Figuration schématique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) [6].

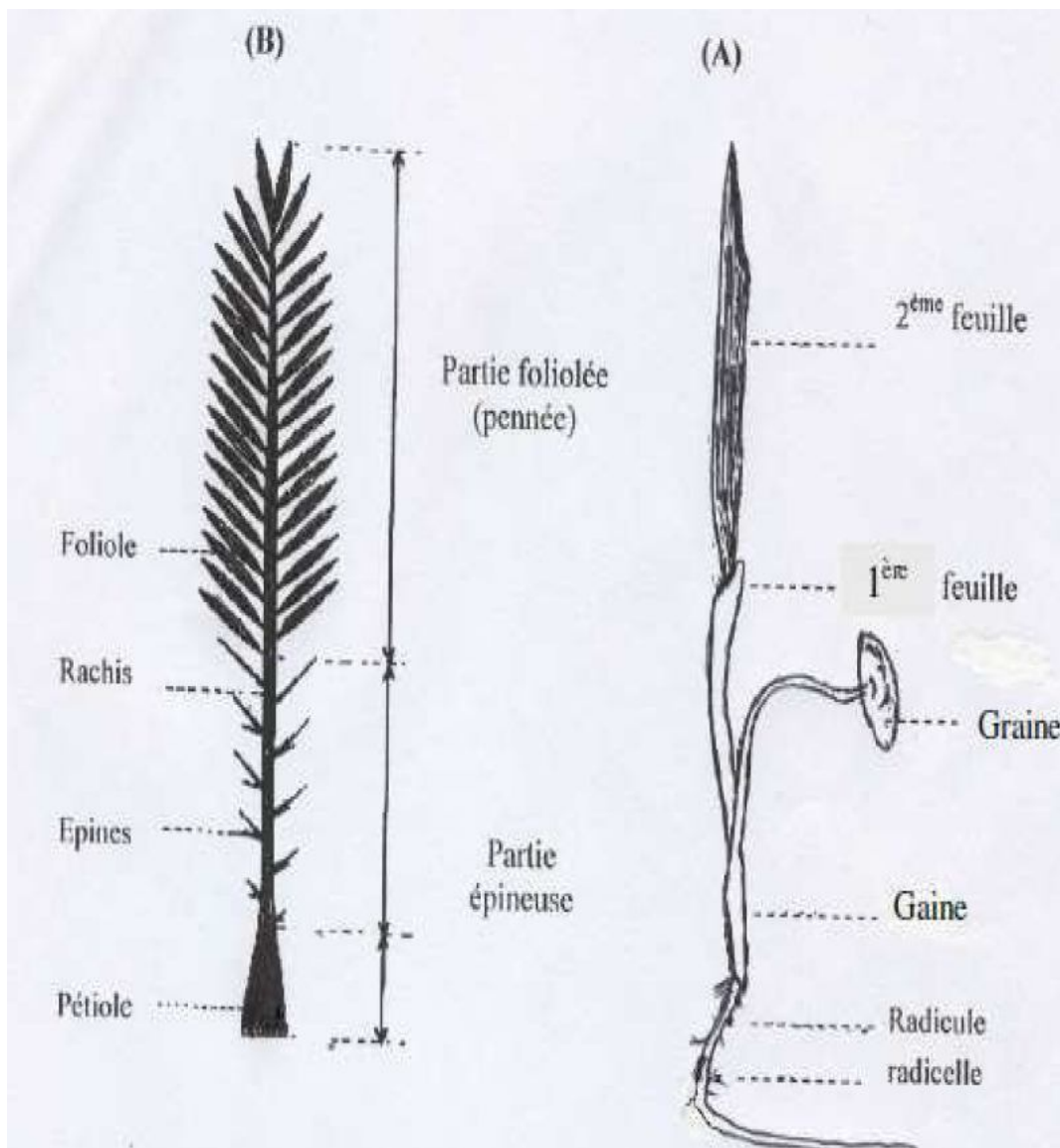


Figure .I.3. A: Jeune feuille d'un plant issu de semis de graine. B: une palme (feuille) d'un palmier dattier adulte [13].

D. Les feuilles

Les feuilles jeunes de plants issus de graines et âgés de moins de deux ans, présentent un pétiole et un limbe entier (Figure.I.3). Après ce stade, les feuilles adultes montrent un pétiole ou rachis bien développé, un limbe penné découpé en folioles composées et une série d'épines solitaires et/ou groupées, différentes en taille, nombre et position.

I.4.3. L'Appareil de reproduction

I.4.3.1. Les spathes ou inflorescences

Le Palmier dattier est une plante dioïque. Les organes de reproduction sont composés d'inflorescences mâles ou femelles portées par des palmiers différents. Les spathes ont une forme de grappes d'épis protégés par une bractée ligneuse close et fusiforme. Elles sont de couleur vert-jaunâtre et sont formées à partir de bourgeons développés à l'aisselle des palmes (Figure .I.4).

I.4.3.2. Les fleurs

Les fleurs sont unisexuées à pédoncule très court. Elles sont de couleur ivoire, jaune-verdâtre selon le sexe et le cultivar ou la variété. En période de pollinisation, les spathes s'ouvrent d'elles-mêmes suivant, la ligne médiane du dos (Figure.I.4). La fleur femelle est globulaire, d'un diamètre de 3 à 4 mm; elle est constituée d'un calice court, de trois sépales soudés et d'une corolle, formée de trois pétales ovales et de six étamines avortées ou staminoïdes (Figure .I.4). Le gynécée comprend trois carpelles, indépendants à un seul ovule anatrope. Au moment de la pollinisation, un seul ovule est fécondé, ce qui aboutit au développement d'un seul carpelle qui, à son tour, évolue pour donner à maturité, le fruit appelé datte. Les autres ovules avortent et tombent après la pollinisation. La fleur mâle a une forme légèrement allongée et est constituée d'un calice court, de trois sépales soudés et d'une corolle formée de trois pétales et de six étamines (Figure.I.4). Les fleurs mâles sont généralement, de couleur blanche crème, à odeur caractéristique de pâte de pain. Les phénomènes de changement de sexe chez le palmier ou de l'existence d'inflorescences des deux sexes à la fois, sont très rares.

I.4.3.3. Le fruit

Le fruit est une baie contenant une graine appelée communément, noyau (Figure .I.5). Après fécondation, l'ovule évolue pour donner un fruit de couleur verte (taille d'un pois puis d'un fruit de raisin jusqu'à la taille normale de la datte).

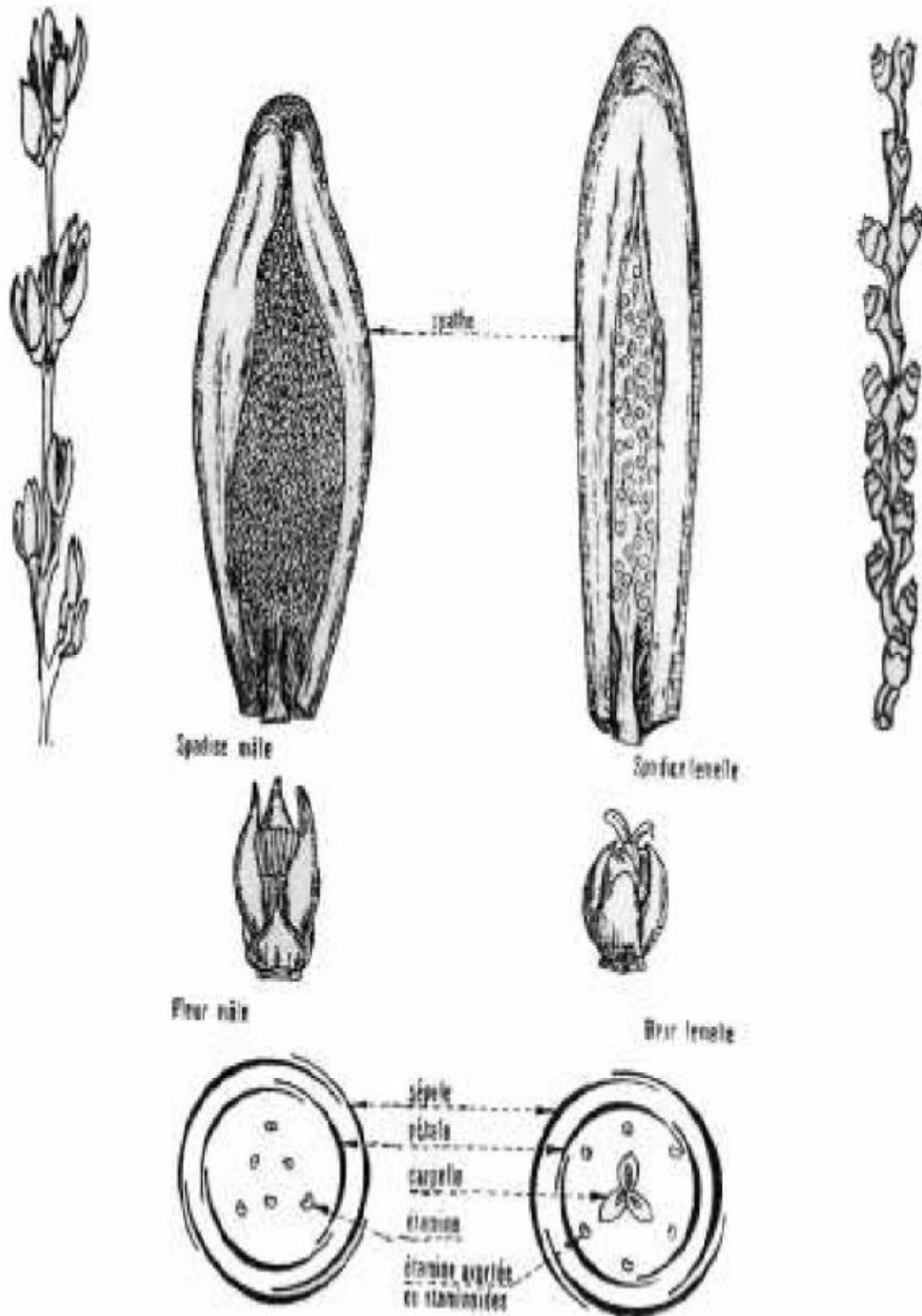


Figure .I.4. Spathes, inflorescences et fleurs du palmier dattier [13]

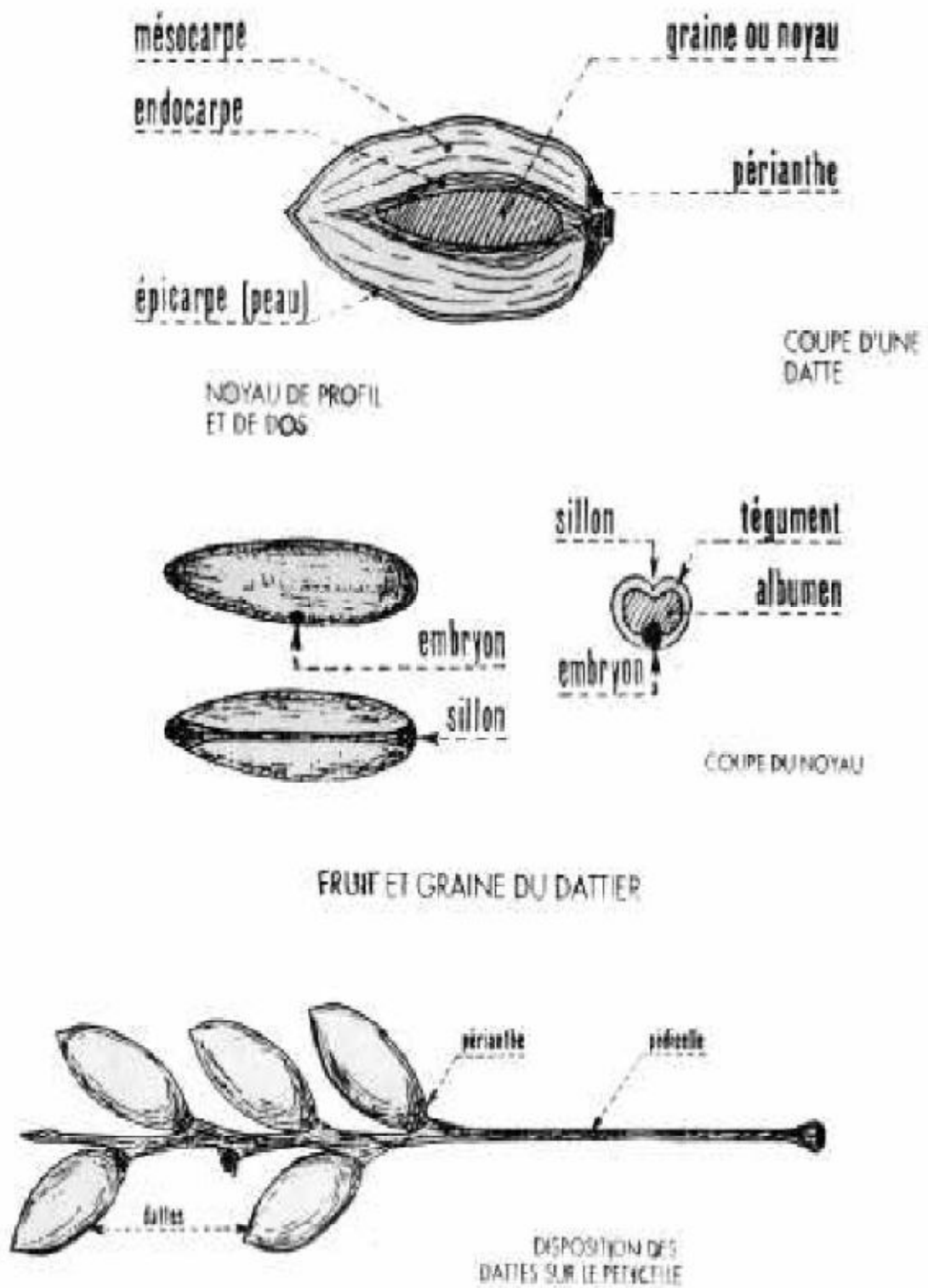


Figure .I.5. Morphologie et anatomie du fruit et de la graine du palmier dattier [6]

I.4.3.4. Cycle végétatif

Le genre *Phoenix* est unique dans sa morphologie mais aussi dans son développement, il est possible de distinguer aussi bien au niveau pratique que théorique cinq phases de développement dans la croissance des palmiers. Ces cinq phases ne sont pas définies strictement, elles sont décrites sur des critères morphologiques alors qu'elles correspondent en réalité à des périodes physiologiques qui ne sont ni connues avec exactitude, ni bien comprises.

Stade 1 : La graine

Elle possède un albumen (endosperme) dur et corné dont l'embryon dorsal est toujours très petit par rapport à l'albumen (2 à 3 mm).

Stade 2 : Phase germinative

A ce stade, la plantule ou la germination vit sur les réserves de l'albumen. La première feuille est de forme linière et lancéolée, cette forme est une des caractéristiques du genre *Phoenix*.

Stade 3 : Construction de la plante

Cette phase post germinative est la plus importante dans l'ontogénie des palmiers car elle aboutit à la constitution de l'axe primaire. La plante devient autotrophe et son système vasculaire doit se construire, durant cette phase appelée aussi "phase d'établissement" observe une série de feuilles à limbe para penné puis penné et qui ont une insertion spiralée caractéristique des genres *Phoenix*.

Stade 4 : la phase adulte végétative

Le dattier va construire son tronc ou stipe et acquérir son « porte de palmier » par extension continue de l'axe végétatif. Cette phase où il produit essentiellement des feuilles et accumule des réserves peut durer de 3 à 8 ans. Le tronc couvert par la base des feuilles anciennes mortes et/ou coupées, peut atteindre 20 à 30 m de haut et environs 1 m de diamètre.

Stade 5 : La phase adulte reproductive

Entre la 5ème et la 8ème année (pouvant aller jusqu'à 10 ans) le dattier commence à produire des inflorescences. Le dattier étant dioïque, ce n'est qu'à ce stade que l'on peut reconnaître son sexe (les quatre stades précédents apparaissent identiques chez les pieds mâles et femelles). Ce dioïque entraîne une allogamie obligatoire qui permet un brassage génétique mais aussi une hétérozygotie [13].

I.5. Exigences climatiques du palmier dattier

I.5.1. Les exigences climatiques

· La température

Le palmier dattier est une espèce thermophile. Son activité végétative se manifeste à partir de 7 à 10°C selon les individus, les cultivars et les conditions climatiques. Elle atteint son maximum de développement vers 32°C et commence à décroître à partir de 38°C. La floraison se produit après une période fraîche ou froide [7,8]. La somme des températures nécessaire à la fructification (indice thermique) et de 1000 à 1660°C, selon les régions phoenicicoles (Munier, 1973). La période de la fructification débute à la nouaison et se termine à la maturation des dattes, elle varie de 120 à 200 jours selon les cultivars et les régions [7].

· La lumière

Le dattier est une espèce héliophile, et la disposition de ses folioles facilite la photosynthèse, la faible luminosité favorise le développement des organes végétatifs au dépend de la production de dattes, ainsi les fortes densités de plantation sont à déconseiller (Munier, 1973).

· Eau

Pour assurer une bonne production dattière, l'arbre a besoin de 16.000 à 20.000 m³/ha/an, selon la nature du sol, la profondeur de la nappe et le degré d'insolation et de température. Les estimations sont de l'ordre de 50 L/mn/ha en été et de 40 L/mn/ha en hiver.

· Sol

Les palmiers sont cultivés dans des sols très variés ils se contentent de sols squelettiques : sableux, sans aucune consistance mais affectionne les sols meubles et profonds assez riches ou susceptibles d'être fertilisés. C'est une espèce qui craint l'argile (Anonyme, 1993).

· L'humidité de l'air

Les faibles humidités de l'air stoppent l'opération de fécondation et provoquent le dessèchement des dattes au stade de maturité, au contraire les fortes humidités provoquent des pourritures des inflorescences et des dattes, respectivement au printemps et à l'automne. Donc le dattier est sensible à l'humidité de l'air. Les meilleures dattes sont récoltées dans les régions où l'humidité de l'air est moyennement faible (40%).

· Le vent

Les vents ont une action mécanique et un pouvoir desséchant. Ils augmentent la transpiration du palmier, entraîne la brûlure des jeunes pousses et le dessèchement des dattes.

Les vents ont aussi une action sur la propagation de quelques prédateurs des palmiers dattiers comme *Ectomyelois cératoniae* [9].

I.5.2. Les exigences édaphiques

Le palmier dattier s'accommode aux sols de formation désertique et subdésertique très divers, qui constitue les terres cultivables de ces régions. Il croit plus rapidement en sol léger qu'en sol lourd, où il entre en production plus précocement. Il exige un sol neutre, profond, bien drainé et assez riche, ou susceptible d'être fertilisés [10].

I.5.3. Les exigences hydriques

Malgré que le palmier dattier est cultivé dans les régions les plus chaudes et plus sèches du globe, il est toujours localisé aux endroits où les ressources hydriques du sol sont suffisantes pour subvenir assez aux besoins des racines. Les besoins du palmier en eau dépendent de la nature de sol, des variétés ainsi que du bioclimat. La période des grands besoins en eau du palmier se situe de la nouaison à la formation du noyau de fruit [11].

Les services agricoles et de l'hydraulique du sud algérien estiment les besoins en eau d'irrigation à 21.344 m³/ha/an, soit 173,45 m³/palmier/an [12], situe les besoins en eau du palmier en sol sableux entre 22 863,6 m³ à 25 859,5 m³/ha/an, soit 183,95 m³ à 210,24 m³/palmier/an.

I.6. Répartition géographique du *Phoenix dactylifera L* en Algérie

La culture du palmier dattier occupe toutes les régions situées sous l'Atlas saharien depuis la frontière Marocaine à l'Ouest jusqu'à la frontière Est Tuniso-Libyenne. Du Nord au Sud du pays, elle s'étend depuis la limite Sud de l'Atlas saharien jusqu'à Reggane à l'Ouest, Tamanrasset au centre et Djanet à l'Est (Tableau .I.2). Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement, pour une superficie de 120 830 hectares. Cependant, quatre principales wilayas représentent 83,6 % du patrimoine phoenicicole national : Biskra 23 %, Adrar 22 %, El-Oued 21 % et Ouargla 15 %.

Tableau .I.2 . Répartition géographique et nombre de palmiers dattiers en Algérie[13]

Wilaya	Superficie Occupée (ha)	Deglet-Nour	Ghars	Degla	Beida	Total
El Oued	27395	1808140	681000	284860	2774000	2140000
Biskra	24894	1319190	430710	783460	2533360	1998580
Ouargla	19625	0	0	2704780	2704780	1997650
Adrar	16811	967580	846450	120170	1934200	1585770
Autre	15665	315640	257520	151615	2089310	1343610
Total	104390	4410550	221568	5409420	12035650	9065610

I.7. Caractéristiques morphologiques des dattes des variétés sélectionnées

La datte est constituée d'une partie charnue (la chaire) et d'un noyau. Les dattes des cultivars présentent des caractéristiques morphologiques différentes. Les dattes se varient selon la couleur, la forme et le goût. Une datte est dite de qualité physiologique acceptable, quand elle présente (Açouren, 2001) :

- Aucune anomalie et aucun endommagement ;
- Un poids supérieur ou égal à 6 g ;
- Un poids en pulpe supérieur ou égale à 5 g ;
- Une longueur supérieure ou égale à 3,5 cm.

En Algérie, les dattes les plus populaires sont : Deglet Nour, Hamraya (Deglet Hamra) et Ghars.

Référence

- [1] Chaira N, Smaali M I, Martinez-Tomé M, Mrabet A, Murcia M A, Ferchichi A(2009): Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water– methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera L*). *International Journal of Food Science and Nutrition*; 60: 316-329.
- [2] Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E, Kefalas P. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89: 411-420.
- [3] Tapas AR, Sakarkar DM, Kakde RB (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.*; 7 (3): 1089-1099
- [4] Benchelah AC, Maka M. Les dattes : intérêt en nutrition. *Phytothérapie* 2008;6: 117- 121.
- [5] Bouguedoura N, Benkhalifa A, Bennaceur M (18-20 novembre 2008). Le palmier dattier en Algérie Situation, contraintes et apports de la recherche. Actes du 3e Séminaire du réseau AUF-BIOVEG « Biotechnologies du palmier dattier » Montpellier (France).
- [6] Munier P(1973). Le palmier-dattier. Maisonneuve et Larose, Paris.
- [7] Oihabi A, (1991). Etude de l'influence des mycorhizes à vésicules et arbuscules sur le Bayoud et la nutrition du Palmier dattier. Thèse de Doctorat d'Etat en sciences. Université Cadi Ayyad-Marrakech.
- [8] Sedra My.H(2003). Le patrimoine phénicicole marocain : culture, inventaire caractérisation agromorphologique et génétique des variétés du palmier dattier. INRA-Rabat. Maroc (en cours de finalisation).
- [9] Al-Bakr A (1972). The date palm, a review of its past and present status and its culture, industry and trade. Edit. Alaiñ Press, Iraq (en arabe). 1405 pp.
- [10] Riedacker A et al (1990). Physiologie des arbres et arbustes en zone aride, John Libbey, Eurotext, 323-324-325-327 p.
- [11] Djerbi M (1994). Précis de phéniculture, F.A.O, Rome, 191 p.
- [12] Peyron G (2000). Cultiver le palmier dattier, G.R.I.D.A.O., Montpellier, 109-129 p.
- [13] Salah Edidne Laouini (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 de Doctorat, Université Mohamed Khider Biskra.

Chapitre II

Les Composés Phénoliques et l'activité antioxydant

II.1. Les composés phénoliques :

II.1.1. Généralités

Les composés phénoliques ou Les polyphénols sont des phytomicronutriments synthétisés par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales.[1]

Les polyphénols, qui forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols ; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes ; les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables.[2000000]

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...) [3].

La fonction principale attribuée à ces composés chez les végétaux est la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations [4].

II.1.2. Biosynthèse :

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- ✓ celle de l'acide shikimique.
- ✓ celle issue de l'acétate.

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, le flavonoïde [5].

II.1.3. Stabilité des polyphénols:

L'oxydation des polyphénols est susceptible d'intervenir :

- Par voie enzymatique (catalysée par la polyphénoloxydase dans des conditions d'aérobies ou par les peroxydases en présence de peroxyde d'hydrogène) au cours des procédés technologiques d'élaboration des aliments ou après ingestion (catabolisme oxydant).
- Par voie non enzymatique : autoxydation lors des traitements thermiques, oxydation conjointe à l'action antioxydante. Dans ce dernier cas, il s'agit typiquement de processus d'oxydation couplés à la peroxydation des lipides polyinsaturés et qui peuvent intervenir dans l'aliment ou chez l'homme après ingestion.

II.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**. [6]

II.1.5. Effets biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques [7].

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux [8], anti-allergènes, vasodilatateurs [9]. et antioxydants [10].

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculo protecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des anti-agrégant plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants [5] .

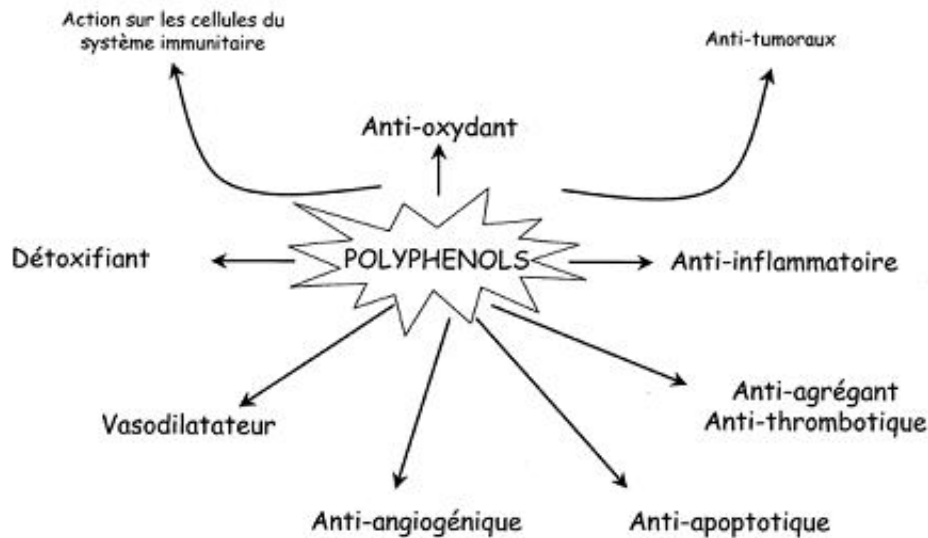


Figure .II.1. Effets biologiques des polyphénols [5].

II.1.6. Propriétés thérapeutiques des polyphénols:

II.1.6.1. Etudes épidémiologiques et propriétés biologiques in vitro

Les propriétés biologiques des polyphénols sont essentiellement établies in vitro et découlent de leur activité réductrice (effets anti- voire pro-oxydants) et de leur affinité pour une grande variété de protéines (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription).

L'une des premières propriétés reconnue aux flavonoïdes est d'être «veino-actifs» c'est-à-dire ayant la capacité de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance.

De nos jours, les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancer. Ils ont également des actions positives sur l'obésité, le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. Les catéchines du thé sont des inhibiteurs de l'angiogénèse in vitro.

Les activités biologiques des polyphénols ont souvent été évaluées in vitro, avec des protéines purifiées, des extraits cellulaires et des cellules entières en culture. Les propriétés biologiques des métabolites conjugués majoritairement présents dans le sang et les tissus ont en revanche été très peu étudiées, faute de disposer des standards commerciaux.

La signification de ces effets biologiques dans le domaine de la nutrition humaine est encore loin d'être établie d'autant qu'ils mettent presque toujours en jeu les formes natives ou aglycones de polyphénols et non pas les formes conjuguées circulantes. Pour progresser dans la démonstration in vivo des effets santé des polyphénols, une meilleure connaissance

de la biodisponibilité des polyphénols (leur devenir après absorption éventuelle au travers de la paroi intestinale) et une combinaison d'études cliniques pertinentes est indispensable. Le développement récent de nouveaux outils et méthodes pourrait permettre des avancées importantes dans les années à venir. C'est notamment le cas de la nutriginomique qui vise à mettre en évidence les gènes dont l'expression est régulée (à la hausse ou à la baisse) par les composants de l'alimentation. La difficulté réside ensuite dans l'analyse et l'interprétation de ces données biologiques complexes.

II.1.6.2. Effet antiallergique

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca²⁺-dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme [11].

II.1.6.3. Effet anti-inflammatoire

Sous l'action de la cycloxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Une étude de Landolfi et son groupe a montré que certains polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes [12]. Les effets de la quercétine et de la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cycloxygénase et la lipoxygénase. Cependant, à de faibles concentrations, seule la lipoxygénase est affectée. En revanche, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cycloxygénase.

La phagocytose qui accompagne une infection virale ou bactérienne est suivie d'une production d'espèces oxygénées réactives par les neutrophiles, ce qui va promouvoir l'inflammation. D'une manière générale, les espèces radicalaires, quelles que soient leurs origines, peuvent induire des dommages tissulaires, favoriser le processus de vieillissement, voire être à l'origine de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose [13]. Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles [14].

II.1.6.4. Effet anti-ulcère

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production leucotriènes [15].

II.1.6.5. Effet anti-cancer

Présente dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale [16]. Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses [17]. La croissance cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes et la réduction des radicaux libres. [12]En effet, la catéchine augmente la résistance du collagène [18] et inhibe l'activité de la collagénase [19].

Les flavonoïdes ont montré des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon [20].

II.1.6.6. Autres activités biologiques

Les flavonoïdes peuvent aussi prévenir le développement du diabète en inhibant l'enzyme aldose réductase. Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques [21, 22, 23]. Certains flavonoïdes peuvent inhiber l'athérosclérose et par conséquent réduire le risque des maladies cardiovasculaires [24, 25]. Les effets anti-viraux des flavonoïdes ont été également démontrés [26].

II.1.7. Classification des composés phénoliques:

Les polyphénols sont classés, selon leur structure en trois catégories principales: les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins (Tableau .II.1) .[27],[28]

Tableau .II.1. Classification des composés phénoliques[27]

CLASSES DE COMPOSES		STRUCTURE GENERALE	EXEMPLES DE COMPOSES	SUBSTITUANTS
Acides phénoliques	Acide cinnamique		Acide caféique	3, 4-OH
			Acide sinapique	4-OH, 3, 5-OCH3
	Acide benzoïque		Acide gallique	3, 4, 5-OH
			Acide salicylique	2-OH
Flavonoïdes	Flavanols		Catéchine	5, 7, 3', 4'-OH
			Epigallocatechine	5, 7, 3', 4', 5'-OH
	Flavones		Apigénine	5, 7, 4'-OH
			Lutéoline	5, 7, 3', 4'-OH
	Flavonols		Kaempférol	5, 7, 4'-OH
			Quercétine	5, 7, 3', 4'-OH
	Flavanones		Hespéritine	5, 7, 3'-OH, 4'-OCH3
			Naringine	5, 4'-OH, 7-RHG
	Isoflavones		Biochanin A	5, 7-OH, 4'-OCH3
			Génistéine	5, 7, 4'-OH
Anthocyanidine		Apigénidine	5, 7, 4'-OH	
		Malvidine	3, 5, 7, 4'-OH, 3', 5'-OCH3	
Tannins	Hydro-ysables		Gallotannin	L'unité structurale de base est l'acide gallique
			Ellagitannin	
	Condensés		Proanthocyanidine	L'unité structurale de base est la catéchine

La classification récente de ces composés les sépare, basée sur le nombre de noyaux phénols, en deux catégories : les composés phénoliques complexes et les composés phénoliques simples [29].

II.1.7.1. Composés phénoliques simples

II.1.7.1.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol [30], représentés par deux groupes essentiels: les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Ils sont constitués d'un noyau phénolique et d'une chaîne latérale insaturée en C₃ [3]. Ces acides abondant dans les aliments se présentent sous forme d'esters, soit solubles s'accumulant dans les vacuoles, ou bien insolubles comme constituants de la paroi cellulaire [31].

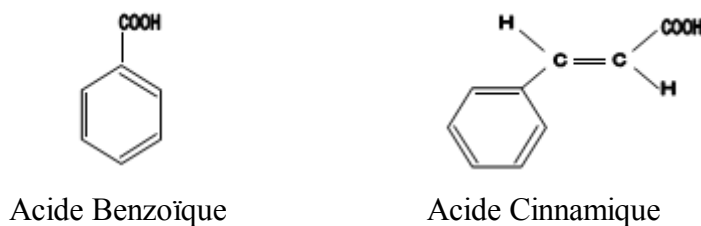


Figure .II.2. Structures chimiques de base d'acides phénoliques [32].

II.1.7.1.2. Flavonoïdes

Du latin flavus, jaune, sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux : on les trouve dissoutes dans les vacuoles à l'état d'hétérosides ou comme constituant des plastes particuliers, les chromoplastes. [33].

Leur biosynthèse s'effectuerait à partir d'un acide aminé, la phénylalanine [34],[35].elles seraient de plus de 5000 dérivés flavonoïdes et leurs activités antioxydantes sont très différentes.[36]

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques en C₆ (A et B) relié par une chaîne en C₃ (Figure .II.3) [37]. La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavonols, flavones, flavanes, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Figure .II.4) [38].

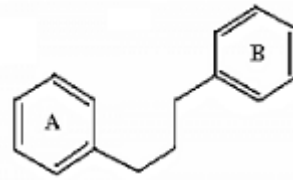


Figure .II.3. Squelette de base des flavonoïdes d'après [40]

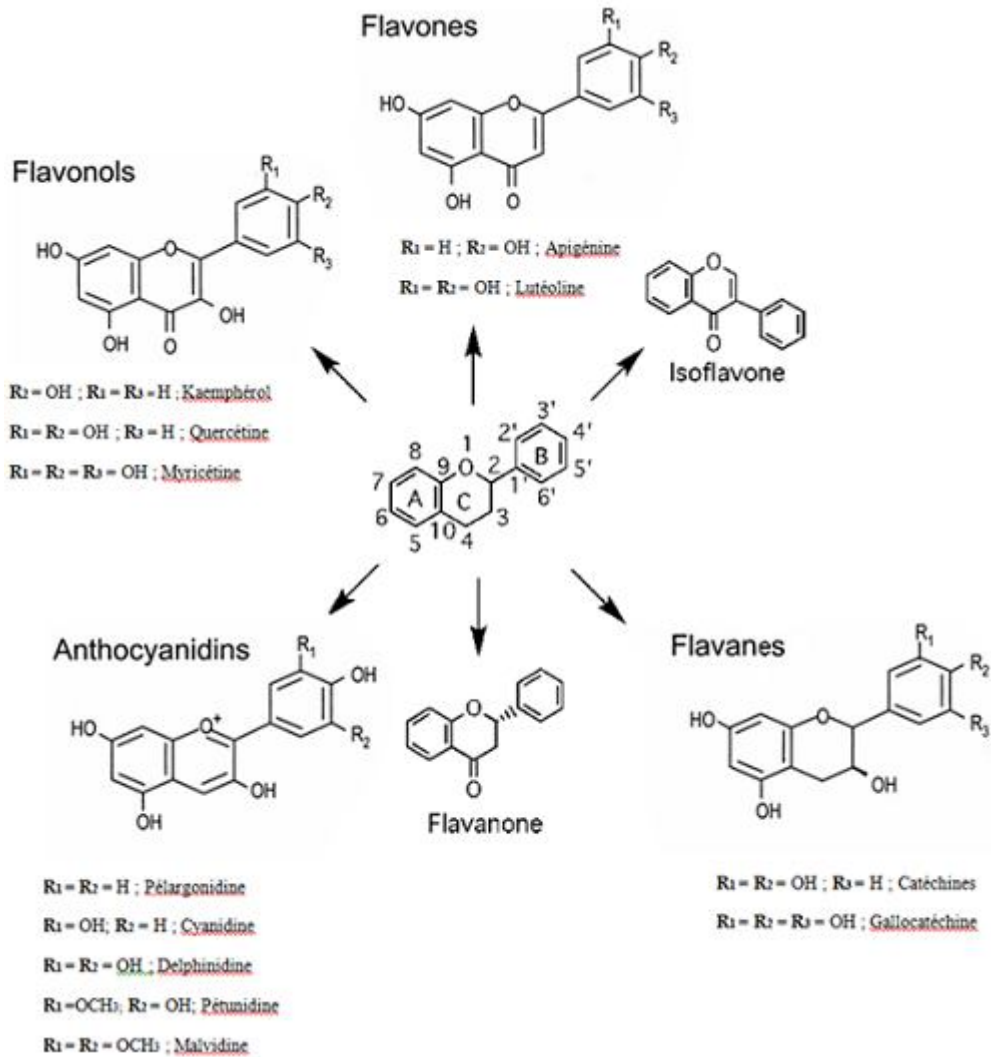


Figure .II.4. Famille des flavonoïdes d'après [31].

II.1.7.1.2.1. Les flavonols (hydroxy-3-flavone)

Les flavonols se différencient des flavones par l'existence d'un OH en position 3. Ce sont les flavonoïdes les plus répandus ; les trois principales structures sont le kaempférol, la quercétine et la myricétine. La quercétine est sans doute le composé phénolique le plus répandu dans la nature [39].

II.1.7.1.2.2. Les flavones

Les flavones proprement dites ont un rôle moins important que les flavonols ; cependant l'apigénine et la lutéoline, dont l'hydroxylation correspond respectivement à celle du kaempferol et la quercétine, sont des constituants assez fréquents dans les différentes familles d'Angiospermes [39].

II.1.7.1.2.3. Les isoflavones

Les isoflavones telle que la génistéine n'ont pas la structure classique en C6-C3-C6 des autres flavonoïdes ; elles sont beaucoup moins répandues que les précédentes, mais il existe dans cette famille un grand nombre de structures peu classiques [39].

II.1.7.1.2.4. Les flavanones

Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3, et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie, il faut ranger les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, citrons, orange: la naringénine, l'hésperidine et l'eridictyol. [6]

II.1.7.1.2.5. Les flavanes

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

Les flavanes se différencient des autres composés phénoliques en ce sens qu'elles existent dans la nature sous forme d'aglycones, le plus souvent polymérisés, alors que les flavones, flavonols et composés voisins sont toujours sous forme hétérosidique.[36]

II.1.7.1.2.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés [42]. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange [43];[44].

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3 [39]. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment [36].

II.1.7.2. Composés phénoliques complexes : les tannins

Les tannins sont des composés phénoliques complexes largement répandus dans le régime alimentaire d'origine végétal obtenus à partir de la condensation des phénols simples [45]. Ils représentent des composés phénoliques secondaires connus essentiellement pour leur capacité de se lier et de précipiter les protéines et autres macromolécules [46]. [47] a divisé les tannins en quatre groupes dont deux groupes principaux

- les tannins hydrolysés ;
- les tannins condensés (les proanthocyanidines) ;
- les oxytannins ;
- les beta-tannins et les prototannins.

Les oxytannins, les beta-tannins et les prototannins ont des poids moléculaires faibles et sont considérés comme étant les précurseurs de molécules tanniques. Les deux principaux groupes, les tannins hydrolysés et les tannins condensés, sont largement distribués dans différentes familles de plantes vasculaires.[48]

II.1.7.2.1. Tannins hydrolysés

Ce groupe de tannins est constitué des formes désoxydées des acides phénoliques simples, comme l'acide gallique et sa forme dimère (gallotannin), l'acide élлагique (ellagitannin), qui s'agglomère avec le glucose (généralement avec D-glucose) [3].

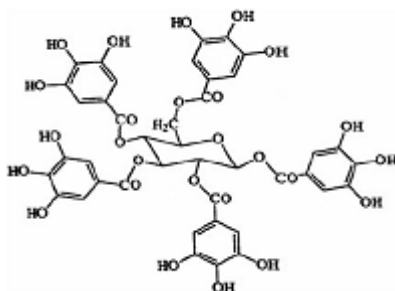


Figure .II.5. Structure chimique de tannin hydrolysé [49]

II.1.7.2.2. Tannins condensés

Les tannins condensés (proanthocyanidines) forment le groupe de tannins le plus important dans plusieurs espèces de plantes vasculaires [47]. Ce sont des oligomères et polymères de flavan-3-ol (catechines) liés entre eux par des liaisons carbone [3].

Les tannins condensés les plus communément présents dans les plantes sont les procyanidines, qui dérivent de catechines ou d'epicatechines pouvant contenir des esters d'acide gallique.

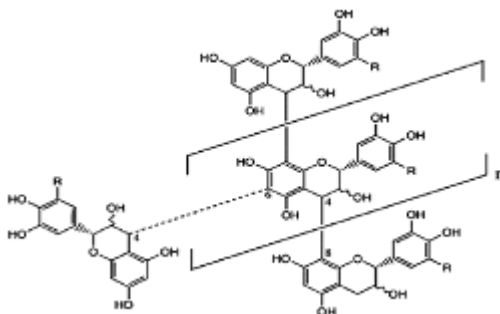


Figure .II.6. Structure chimique de tannin condensé [49]

II.1.8. Intérêt des composés Phénoliques

II.1.8.1. Rôle physiologique

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaires, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation [50].

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques de feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV [51].

Ils sont impliqués dans la réaction de défense du palmier dattier contre le bayoud, maladie infectieuse due a un champignon telle que *Fusarium oxysporum* [52].

II.1.8.2. 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 [53].

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 [54].

Les proanthocyanidines sont largement répandus dans notre alimentation et jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits [55].

II.1.8.3. Rôle biologique

Tableau .II.2. Activités biologiques des composés phénoliques.[6]

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaroveineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tannins galliques et Catéchiques	Antioxydantes

II.2. Activité antioxydantes

II.2.1. Introduction

Lorsque la production de radicaux libres devient trop grande, nos réserves d'antioxydants peuvent devenir insuffisantes pour neutraliser l'effet néfaste de l'oxydation des radicaux libres sur nos tissus et cellules. C'est pour ça l'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des RL (radicaux libres). Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme «antioxydant». On parle alors de « stress oxydatif » [56].

- **Qu'est-ce qu'un radical libre ?**

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique [57].

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxyde ROO•, radical alkoxyde RO•), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [58].

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (**ROS**). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde O₂•, radical hydroxyl OH•, monoxyde d'azote NO•, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet 1O₂, peroxyde d'hydrogène H₂O₂, peroxydinitrite ONOO⁻ [59].

II.2.2. Définition

Les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat, et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire. [56] Le radical libre est important de signaler que les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. Les radicaux libres sont

cependant une cible privilégiée pour améliorer les thérapeutiques à différents stades pathologiques [60].

II.2.3. Les sources des antioxydants

II.2.3.1. Les antioxydants synthétisés :

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluène et le butylhydroxyanisole, appartiennent à cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydantes et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments[61].

Ils sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques. Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle. Depuis à peu près 1980. Toutefois, le fait de trouver communément une substance dans un aliment ne constitue pas une garantie de son absence totale de toxicité. Les antioxydants synthétiques ont été testés quant à leurs effets carcinogènes ou mutagènes, mais de nombreux constituants naturels des aliments n'ont pas encore été testés [62].

II.2.3.2. Les antioxydants naturels :

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, les vitamines (E, C, P..), les composés phénoliques. [60]

II.2.3.2.1. Les vitamines :

- **la Vitamine C:** Acide ascorbique :

Est largement répandue dans les fruits comme : les légumes, les choux, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.

- **La vitamine E :**

Elle semble devoir fixer le radical hydroxyle avec formation d'une molécule d'ouverture de cycle. On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, tournesol, olive pressé à froid), les amandes, les graines, le lait, les œufs, les légumes à feuilles vertes.

- **Le β carotène**

Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye. [63]

II.2.3.2.2. Les composées phénoliques :

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes agissent par deux mécanismes d'action :

- soit par chélation des métaux (quercétine, catéchine).
- soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyles et peroxydes.

On les retrouve dans les fruits, les légumes, le thé ...etc. [63] Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui sont impliquées dans l'athérogenèse. [60]

- **les xanthonnes**

Ils possèdent des propriétés inhibitrices envers la peroxydation des lipides en plus du fait qu'ils captent les radicaux libres contre les anions superoxydes.

- **les coumarines**

Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires. [63]

Les conditions structurales requises pour l'activité antioxydant des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes. [60]

- **les dérivés d'acide phénolique**

On les retrouve dans de nombreux fruits, légumes, le café, les prunes, les myrtilles, le raisin et les pommes. Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique.

Il inhibe aussi la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les mitochondries et possède une forte capacité de capter le radical libre DPPH.

- **les tanins**

Les tanins inhibent la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes mais aussi l'oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate. Lors de la peroxydation les tannins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi des radicaux tanniques stables sont formés. Ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique.

- **Les lignanes**

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leur activité antioxydant sont les dérivés bifuranyles des graines de sésame. [63]

II.2.4. Les utilisations des antioxydants :

- L'activité éventuelle de molécules médicamenteuses déjà connues, qui présentent les avantages d'une biodisponibilité et de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques déjà bien connus.
- Sont concernées par l'utilisation dans l'industrie alimentaire.
- L'industrie de lubrifiants : elle produit notamment les huiles pour moteurs et transmissions automobiles.
- L'industrie des matières plastiques : des additifs sont utilisées pour protéger les polymères de l'oxygène de l'air.
- L'industrie cosmétique : les molécules utilisées sont plus ou moins les même que dans l'industrie alimentaire. [64]

Références

- [1] Gee J.M., Johnson I.T. (2001) Polyphenolic compounds : interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. 8 : 1-182
- [2]Dacosta, Y. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
- [3] Bruneton J. (1999). *Pharmacognosy: Photochemistry, Medicinal plants*. 2eme Ed. Lavoisier. Paris. pp : 240-387.
- [4] Lebham. (2005). Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM) -Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- [5] Martin S., Andriantsitohaina R. (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51: 304-315.
- [6] Saliha Daas Amiour , (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, Université El-Hadj Lakhdar - Batna,p 41.
- [7] Bahorun, T. (1997) Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural research council, Réduit , Mauritius*.83-94.
- [8] Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2007) Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*. 12: 607 -621.
- [9] Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely, C. (2008) Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities . *C. R. Biologies*. 331: 372 -379.
- [10] Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura -Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. (2006) Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis* . 41: 1220 -1234.
- [11] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Rev. Life Sci .*, 65, 337-53.
- [12] Landolfi R., Mower R.L., Steiner M., 1984. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochem Pharmacol*, 33, 1525-1530.
- [13] Ward J., 1994. *Austr. J. Physic.*, 23, 1297-301.
- [14] Limasset B., Doucen C., Dore J. Ch., Ojasoo T., Damon M., de Paulet A. C., 1993. Effect of flavonoids on the release of reactive oxygen species by stimulated human neutrophils. Multivariate analysis of structure-activity relationships (SAR). *Biochem. Pharmacol.* , 46, 1257-1271.
- [15] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Rev. Life Sci .*, 65, 337-53.

- [16] Bracke M., Vyncke B., Opdenakker G., Foidart J.M., De Pestel, G., Mareel, M., 1991. Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro. *Clin. Exp. Metastasis.*, 9, 13-25.
- [17] Jodoin J., Demeule M., Béliveau R., 2002. Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein activity by green tea polyphenols, *J. Biochem. Biophys. Acta* , 1542, 149-159.
- [18] Scutt A., Meghji S., Canniff J.P., Harvey W. , 1987. Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis. *Experientia.*, 43, 391- 393.
- [19] Makimura M., Hirasawa M., Kobayashi K., Indo, J., Sakanaka S., Taguchi T., Otake S., 1993. Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity. *J. Periodontol* , 64, 630-636.
- [20] Duthie G. G., Duthie S. J., Kyle J. A. M., 2000. Plant polyphenols in cancer and heart disease: Implications as nutritional antioxidants. *Nut. Res. Rev.* , 13, 79- 106.
- [21] Ong K.C., Khoo H.E., 1997. *Gen. Pharmacol.* , 29, 121-126.
- [22] Ong K.C., Khoo H.E., 2000. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sci.* , 67, 1695-1705.
- [23] Hertog M.G., Feskens E.J., Hollman P.C., Katan M.B., Kromhout D., 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study *Lancet*, 342, 1007-1011.
- [24] Yann C. & Ramaroson A., 2005. *Pharmacol. Rep.* , 57, 97-107.
- [25] Goodarzi M. T., Zali F., Malakooti M., Safari M. R., Sadeghian S., 2006. *Acta. Medica Iranica* , 44, 41-45.
- [26] Chu S.C., Hsieh Y.S., Lin J.Y., 1992. Inhibitory effects of flavonoids on Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase activity. *J Nat Prod.* , 55, 179-183. [41] Alais C. et Linden G. (1997). *Biochimie alimentaire*. Ed. Masson, Paris. pp 120-125.
- [27] Balasundram, N. ; Sundram, K. et Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*-191 :99 - 203.
- [28] Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5: 264–270.
- [29] Clifford M.N. (1999). Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea. Washington, DC, CRC Press LLC.: Boca Raton, Florida, 41 (5): 393-397.
- [30] Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- [31] Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. et Jimenez L. (2004). Polyphénols: food sources and bioavailability. *Amj. Clin. Nutr*, 79: 727-747.
- [32] Zuo Y., Wang C. et Zhan J. (2002). Separation, characterisation, and quantitation of benzoic and phenolics antioxidants in American cranberry fruits by GC-MS. *J. Agric. Food Chem*, 50: 3789 – 3794.
- [33] Guignard J. (2001). *Botanique systématique moléculaire*, 2^{ème} édition Lavoisier, Paris. p.122
- [34] Morelle J. (2003). *L'oxydation des aliments et la santé*. Ed. Nouvelle Imprimerie Laballery, Paris. p 250.

- [35]Naczk M.and Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 43(2):798.
- [36] Ben Abbes Farah , (2011)," Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « Phoenix dactylifera L." Thèse de magister Université Ferhat Abbas-Setif ,P 22 – 26.
- [37] Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales.* Ed Lavoisier, Paris .278-279 p.
- [38]Medic Sanic M., jasprica I., Smolcic Bubalo A . and Mornar A. (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids. *Croatica chemica acta.* 361-366 .
- [39]Ribéreau-Gayon P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux.* Ed. Dunod , Paris. p 254.
- [40]Dean F M. (1963). *Natural occurring Oxygen Ring Compounds.* Ed Butterworth, Londres.p 123.
- [41]Alais C. et Linden G. (1997). *Biochimie alimentaire.* Ed.Masson, Paris. pp 120-125.
- [42] Guignard J. (1996). *Biochimie végétale.* Ed. Lavoisier, Paris. pp 175-192 p.
- [43]Harbone J B. (1967). *Comparative biochemistry of the flavonoides.* Academic press. New York. 1-130 p.
- [44]Brouillard R. (1986). *The flavonoids Advances. In: research since 1993.* Harborne J B, Chapman and Hall, London. pp 525-538.
- [45] Makkar, H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannin, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49: 241-246
- [46] Hagerman A.E, Rice M.E. et Ritchard N.T. (1998). Mechanisms of protein precipitation for two tannins, penagalloyl glucose and epicatechin (4-8) catechin (procyanidin). *J. Agric. Food Chem*, 46: 2590-2595.
- [47] Swain T. (1979). *Tannins and lignins.Herbivores.* Academic Press, New York. pp: 657-682.
- [48]Midoun Tahar , (2011) "Extraction des Composés Phénoliques et étude leurs activités Antioxydantes par la Voltamétrie Cyclique." Thèse de magister, Université Kasdi Merbah Ouargla ,p 33.
- [49] Smith A.H., Zoetendal E. et Mackie R.I. (2005). Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial Ecology*, 50:197-205.
- [50]Alibert J., Ranjeva R. et Boudet M A. (1977). Organisation subcellulaire des voies de synthèses des composés phénoliques. *Physiol. Veg.* 15: 279-301.
- [51]Hadi M. (2004). *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro -oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques.* Mémoire doctorat. Option Pharmacochimie. Université Louis Pasteur. Strasbourg.155 p.
- [52]Daayf F., El Bellaj M.,El Hassni M.,Jaiti F. and El Hadrami I.(2003).Elicitation of soluble phenolics in date palm (Phoenix dactylifera) callus by *Fusarium oxysporum* f.sp. albidnis .*Environ.Experiment.Botany.*49 :41-47.

- [53] 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, 220 p.
- [54] Dubois GE, Grosby GA and Saffron P., 1977. Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, 195 : 397 - 399.
- [55] Perret C., 2001. Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de doctorat .Université de Neuchâtel, 184 p.
- [56] Boumaza A. Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Université Mentouri-Constantine.2009
- [57] Dacosta, Y. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
- [58] Novelli G. P, (1997) "Role of free radicals in septic shock. J." *Physiol. Pharmacol* , 48: 517-527.
- [59] Favier A, (2003) "Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique." *L'Actualité chimique*; 108-117
- [60] Boubacar souley amadou. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* perr. Ex DC(com bretaceae). Université de Bamako .2005.
- [61] MAAMRI S. Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens . Thèse Magister en biologie Université M'HAMED BOUGARA Boumerdes.2008
- [62] BENAROUS K; Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: a-amylase, trypsine et lipase ; université Amar Telidji Laghouat, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique ;2009.
- [63] Mogode Debete Judith. Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (Caesalpiniaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Université de Bamako. 2005
- [64] Hennebelle T. Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum* ballota larendana, *ballota pseudodictamnus* (lamiacées) et *lippia alba* (verbénacées). Université des Sciences et Technologies de Lille-lille1. 2006.
- [65] Salah Eddine LAOUINI;(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 de Doctorat, Université Mohamed Khider Biskra.

Chapitre III

Méthodes et Matériels

III. Matériels et Méthodes

III.1. Matériels

III.1.1. Matériels de laboratoire:

*Appareillage :

- Bain Ultrason – H (J.P.SELECTA , s.a) .
- Evaporateur rotatif (Rotavapor BUCHI Heating bath R-210).
- UV-VIS (UV-1800 SHIMADZU).

III.1.1.1: La spectrophotométrie UV-visible :

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une structure chimique donnée en solution, plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer– Lambert .

La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier. Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s)[5].



Figure. III.1 : UV-visible (photo original)

*** Produit chimiques:**

- Acide gallique ($C_7H_6O_5$) (99%) .
- Rutine ($C_{27}H_{30}O_{16}$) (97%) .
- Quercitine dihydrate ($C_{15}H_{10}O_7$) (97%) .
- Réactif Folin-Ciocalteu ($3H_2O, P_2O_5, 13WO_3, 5MoO_3, 10H_2O$) .
- DPPH ($C_{18}H_{12} N_5O_6$) (95%) .
- Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$) .
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3) .
- Acétate de sodium (CH_3COONa) .
- Ethanol 96% (CH_3-CH_2-OH) .
- Méthanol 99% (CH_3-OH) .
- Acide acétique 99% (CH_3-COOH) .
- Acide sulfurique (H_2SO_4) .
- Phosphate de sodium .
- Molybdate d'ammonium .

III.1.2. Matériel végétal :

III.1.2.1 Préparation des échantillons:

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des feuilles de Phoenix dactylifera L, récoltée le mois de février 2015 dans la région de Tiksebt d'El Oued .

Après le bien-écrasé par la machine électrique, nous conservons l'échantillon dans un récipient en verre bien fermé et loin de la lumière, les feuilles devront être pas infectées.



Figure III.2: L'échantillon de feuilles de *phoenix Dactylifra L* sec (photo original)

III.1.2.2. Optimisation de l'extraction des polyphénols

Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols des feuilles de palmier , deux paramètres ont été étudiés : la fraction solide /liquide et le temps d'extraction .

III.2. Méthodes:

III.2.1. Protocole utilisé pour l'extraction:

Pour isoler les matières naturelles nous avons utilisé des solvants organiques, si la matière qui nous voulons la séparer est liquide nous appliquons la méthode liquide-liquide ; si la matière est solide nous appliquons l'extraction solide-liquide [1].

Dans notre travail nous avons utilisé l'extraction par bain ultrason , cette technique est maintenant bien connus pour avoir des effets significatifs sur la cinétique de certaines réactions chimiques ou encore sur la réduction du temps des procédés industriels. En effet, la cavitation

induite par les ultrasons de faibles fréquences dans les milieux liquides se traduit entre autres par des accélérations de cinétique et/ou des améliorations du rendement, notamment dans le cas de l'extraction solide-liquide [2].

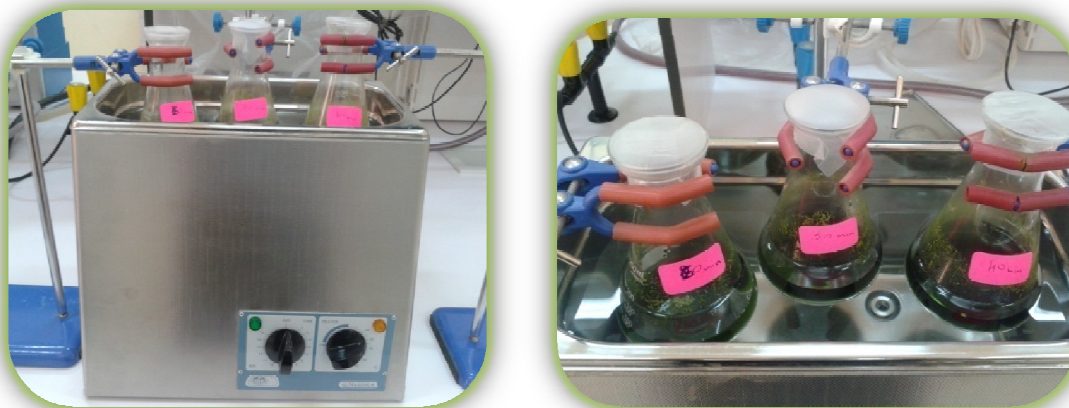


Figure .III.3 :Extraction par ultrason (photo original)

Nous utilisons un solvant polaire : éthanol 95% + l'eau distillée (70 :30 v/v) pendant 30 min.

Nous pesons 10g de poudre de feuilles de notre plante étudiée ensuite la placée dans un erlenmeyer à différent fraction, ces préparations ont soumis à une extraction par ultrason à 30 °C pendant 30 minute. Les macéras sont réunis puis ils sont filtrés sur un papier filtre. Les filtrats ensuite évaporés presque à sec au moyen d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 50°C puis à 60°C pour éliminer le solvant.

Dans cette dernière étape, nous prendrons soins de noter la masse du ballon avant et après l'évaporation afin de calculer le rendement d'extraction. Les résidus sec obtenu ont été récupérés dans des flacons en verre hermétiquement fermé et conservé pour protéger ses caractéristiques physicochimique pour l'étude de son efficacité.

Les résidus obtenus sont dosés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible afin de quantifier les teneurs en composés phénolique.



Figure .III.4 : évaporateur rotatif sous vide (photo original)

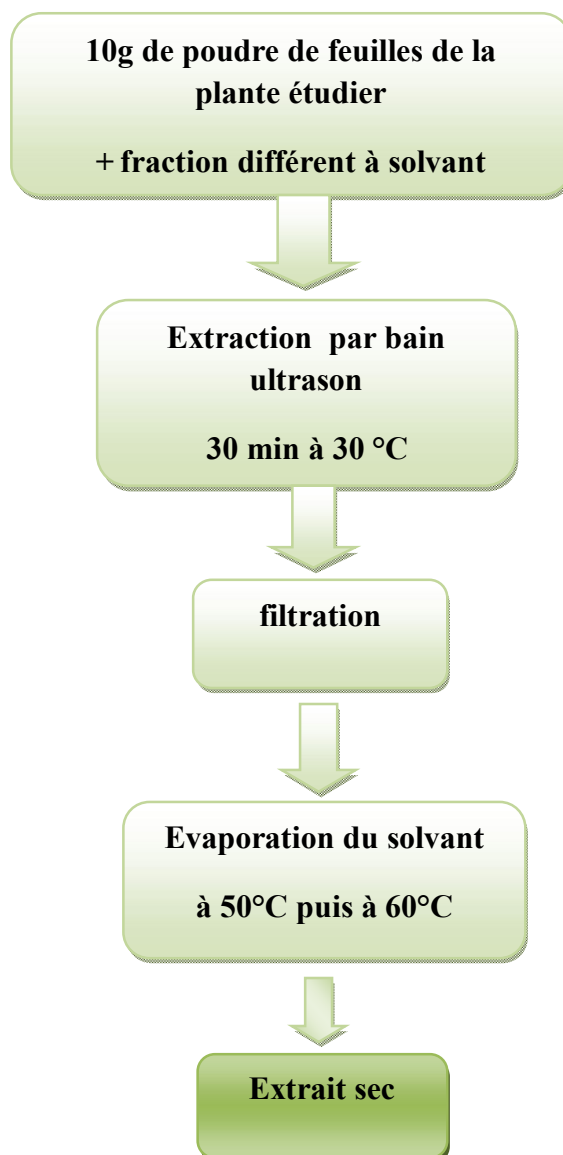


Figure .III.5:Protocole utilisé pour l'extraction

III.2.2.dosage des composées phénoliques

III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT):

Ce dosage permet d'avoir une estimation sur la teneur en polyphénols totaux de l'échantillon. Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode adaptée de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalte.

La courbe standard d'acide Gallique:

Le dosage est réalisé en utilisant le réactif de Folin. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$ et d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_3 . Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante, 1 ml des solutions d'acide gallique de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1 mg/mL, ensuite 1 ml d'une solution de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans de l'eau distillée est ajouté puis immédiatement ajouté 0.8ml d'une solution de Na_2CO_3 (7.5%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc. Les lectures de la densité optique à 760nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique [3].

III.2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT):

Flavonoïde totale a été déterminée en utilisant la méthode de Ordonez [4].

Le chlorure d'aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

Mettre 1ml d'extrait dans un tube à essai ; Ajouter 1 ml de solution éthanolique de chlorure d'aluminium à 2% , laisser incuber 1h à température ambiante. Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 420 nm.

Nous effectuons la même opération pour la quercétine à différentes concentrations en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d' $AlCl_3$ à 2%.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées en l'équation de la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard.

III.2.2.3. Dosage des flavanols totaux:

La méthode utilisée pour l'estimation de taux de flavanols est celle décrite par Kumaran et Karunakaran [4] .

Mettre 2 ml d'extrait dans un tube à essai ; ajouter 2 ml de solution éthanoïque de chlorure d'aluminium à 2 % puis 3 ml d'acétate de sodium à 50g/l , laisser incuber 2,5 h à température ambiante. Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 440 nm .

La concentration des flavanols contenus dans les extraits sont calculées en l'équation de la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la Rutine comme standard.

III.2.3. Test d'évaluation de l'activité antioxydante totale (PPM):

Le test du **PPM** (PhosPhoMolybdate) est une variante du test **DPPH**. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extraitantioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant.

La courbe standard de l'acide gallique :

L'analyse de molybdate phosphate est réalisée en utiliser le protocole décrite comme suit :

nous préparons 100 ml d'un mélange des trois solutions suivantes :

- 0,6 M d'acide sulfurique
- 28 mM phosphate de sodium
- 4 mM molybdate d'ammonium

100 µl de l'acide gallique dilué sont ajoute à 1ml de la solution précédente .le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95°C Pendant 90 min, après refroidissement l'absorbance a été mesurée à 695 nm.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits est comparée par rapport à L'acide gallique qui utilisé comme antioxydante dans l'industrie agroalimentaire.

La norme courbe a été préparée en utilisant les concentrations Connues de (0,05 à 0 ,3 mg/ml)[6].

III.2.4. Test du 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•) :

La réduction du radical libre DPPH[•] par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquées par la présence des extraits phénoliques.

Le DPPH[•] est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (Figure.III.6). Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Plus la chute de l'absorbance du DPPH est importante plus le pouvoir antioxydant des extraits est élevé.

Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques de nos extraits [7].

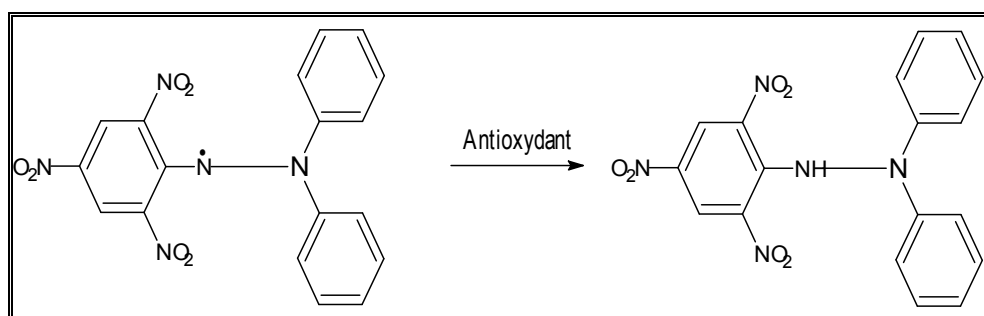


Figure .III.6. Réduction du radical libre DPPH.

Les mesures des densités optiques de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le paramètre IC₅₀ qui indique le pouvoir antioxydant d'un composé ou d'un extrait et qui est défini comme étant la concentration de l'extrait exprimée en mg/ml nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH. La valeur d'IC₅₀ de chaque extrait est déduite à partir des équations des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de IC₅₀ est petite plus l'activité antioxydant des extraits est grande [8].

Une solution méthanolique de 0,1 mM de DPPH est mélangée avec différentes concentrations des extraits, mettre 1ml de chaque dilution de ces extraits dans un tube à essai,

ajouter 2ml de solution méthanolique de DPPH, puis laisser incuber 15 min à l'abri de la lumière à température ambiante. Lire l'absorbance à 515 nm contre un blanc qui contient de méthanol pur. Le contrôle est la solution DPPH avec le solvant .

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

$$I\% = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

Avec:

A_0 : absorbance du control (ne contenant aucun antioxydant)

A_1 : absorbance des extraits.

L'efficacité anti radicalaire est calculée comme suit :

$$EA=1/IC_{50}$$

Où l' IC_{50} est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH [9].

Référence

- [1] Petko Ivanov PENCHEV, (2010) Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse.
- [2] Veillet S, Tomao V, (2009), Ultrasound Assisted Extraction of aromas and antioxidants in F. Chemat (Ed) Essential oil and aromas green extractions and applications. Handbook New Delhi Inde.
- [3] Ivana Karabegovi, Milena Nikolova, and Miodrag Lazi, (2011) , comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the artemisia sp. recovered by different extraction techniques, biotechnology and bioengineering chinese journal of chemical engineering, 19(3) 504-511.
- [4] Mbaebie .BO, Edeoga. HO, Afolayan. AJ,(2012) Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 118-124.
- [5] Giardi MT, Rea G, Berra B (2010) Bio Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors. Landes Bioscience and Springer Science+Business Media.
- [6] Fallah Hanen,Ksouri Riadh ,Oueslati Samia ,Guyot Sylvain , Magné Christian , Abdelly Chedly ,(2009) ,Interspecific variability of antioxidant activities and phenolic composition in *Mesembryanthemum* genus , food and chemical Toxicologie 47 ,2308-2313.
- [7] Sanchez Moreno,C ,Review,methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods Sci.Tech. I ,8(3) :121-137.
- [8] P.Molyneux (2004), song klana Karin J. sci technol., 26 211-219.
- [9] Harrar Abd El Nacer , (2012) "Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L." Thèse de magister ,Universite Ferhat Abbas-Setif .

Chapitre IV

Résultats et Discussions

IV. Résultats et discussion :

IV.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques :

Les extractions des différents composés phénoliques le plus abondant dans notre plante Permet de calculer le rendement de chaque extrait notamment les extraits bruts hydro-alcoolique (EthOH/eau).

$$Re(\%) = \frac{\text{Masse de résidu extrait}}{\text{Masse initial de végétale}} \times 100$$

Le rendement déterminé par rapport à 10 g de matériel végétale sec et broyé est exprimé en pourcentage.

IV.2. Dosage des composés phénoliques par la méthode colorimétrique:

Les différents extraits ont des couleurs caractéristiques, cela est due à la présence des pigments végétaux ou bien les polyphénols. Dans notre étude, nous intéressons à quantifier ces substances.

IV.2.1. Evaluation des concentrations équivalentes:

L'étude quantitative des extraits bruts de échantillon au moyen de dosages spectrophotométriques avait pour objectif de la détermination de la teneur des composés phénoliques. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est présenté dans la (Figure .IV.1). La quantité des polyphénols correspondante a été rapportée en milligramme par un gramme de la matière végétale équivalent en solution standard. L'équation obtenue d'après la courbe linéaire de solution standard est :

$$y = ax + b \quad (IV.1)$$

Où :

y: représente la valeur d'absorbance.

x: représente la valeur de la concentration du standard en mg. ml⁻¹.

En remplaçant à chaque fois la valeur d'absorbance dans l'équation précédente, on trouve la valeur de la concentration équivalente de solution standard C éq en mg/g.

IV.2.2. Courbes d'étalonnages des dosages de PPT,FVT, FLT:

IV.2.2.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage de polyphénols totaux (PPT)

Cette courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/ gMs). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0.975$ (Figure .IV. 1)

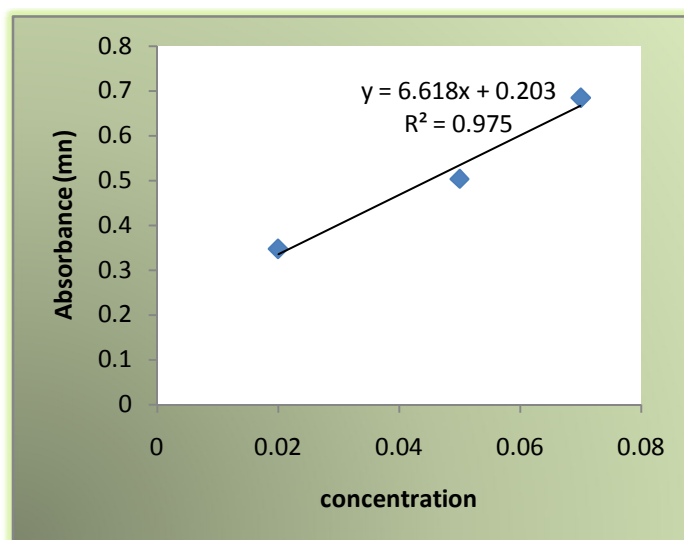


Figure. IV.1. Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique (polyphénoles).

IV.2.2.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonoïdes totaux (FVT):

Le composé de référence utilisé pour l'établissement de cette courbe est la quercétine. La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2= 0,996$ (figure .IV.2). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de la matière sèche (mg EQ /g Ms).

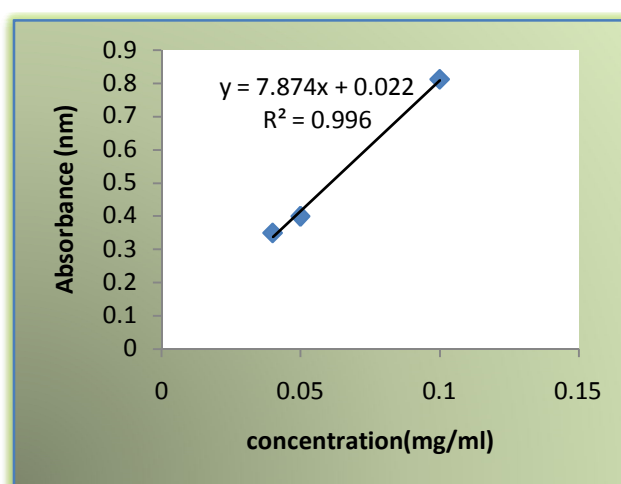


Figure.IV.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux

IV.2.2.3. Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonols totaux (FLT)

La Rutine a été utilisée comme étalon à différentes concentrations, La teneur en flavanols est exprimée en mg d'équivalent de Rutine par gramme d'extrait (mg ER/g d'extrait). Le taux des flavanols des extraits ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage de Rutine (Figure IV.3).

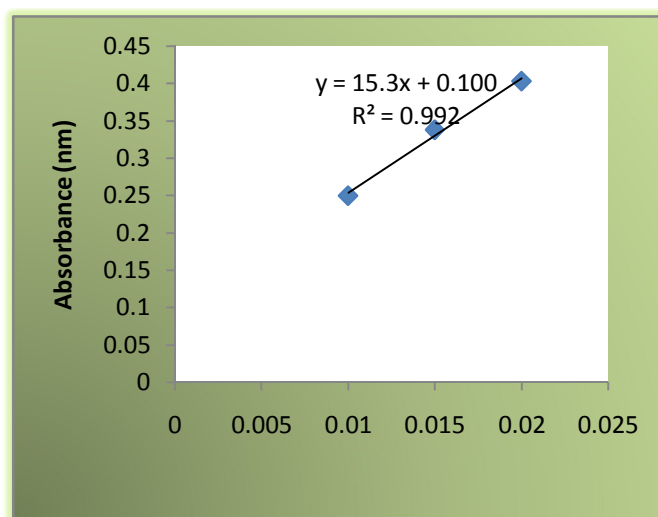


Figure.IV.3. Courbe d'étalonnage de Rutine (flavanols).

IV.3. Test d'évaluation de l'activité antioxydante totale (PPM) :

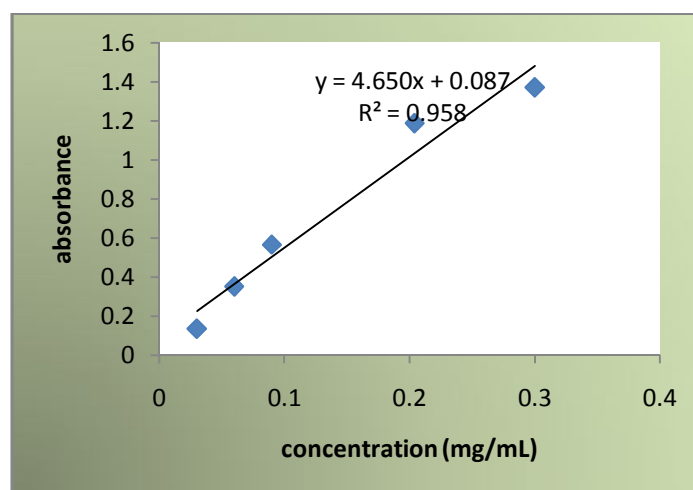


Figure.IV.4. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique(PPM).

IV.4. Influence des fractions solide/liquide:

IV.4.1. Rendement

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau IV.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques dans solide/liquide

Extrait sèche 30min T=30°C					
L'échantillon solide/liquide	1/6	1/7	1/8	1/9	1/10
Rendement%	6.98	8.109	8.639	9.398	8.316

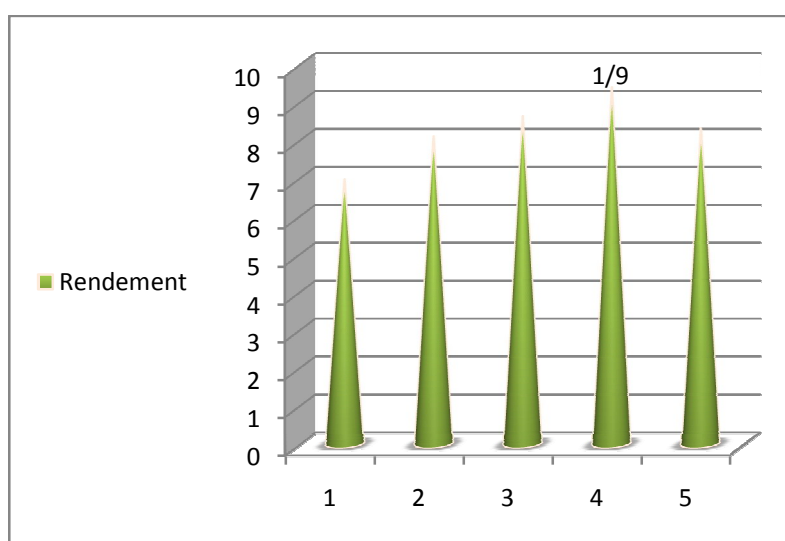


Figure. IV.5. Rendement d'extraction des composés phénoliques dans solide/liquide

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que l'extrait brut à fraction (1/9) enregistre rendement le plus élevé (9.398 %) suivi par l'extrait à fraction (1/8) à raison de (8.639%) et de l'extrait à fraction (1/10):(8.316%). D'autres rendements plus au moins considérables ont été observés dans l'extraits à fraction (1/7) : (8.109%) et l'extrait à fraction (1/6) représente la valeur la plus faible (6.98%).

L'impact de rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols de feuilles de palmier est mesuré avec les rapports (1 /6, 1 /7, 1 /8, 1/ 9, 1 /10) (Figure.IV.5). l'augmentation du rapport solide/liquide, présente un effet positif sur l'extraction. En effet, le rapport solide/liquide de 1/9 permet d'extraire le taux le plus élevé . Au-delà de ce rapport, les taux diminuent.

IV.4.2. Résultats de compositions phytochimiques

IV.4.2.1. Polyphénols totaux

Tableau.IV.2. La teneur des polyphénols d'extrait des feuilles de *Phoenix dactylifera L*

Equation : Y=6.618x+0.203	extrait	Teneur en polyphénols totaux (mg/g) des <i>Phoenix dactylifera L</i> .				
R ² =0.975		1/6	1/7	1/8	1/9	1/10
		212.8±10.31	246.05±9.97	170.75±7.88	222.87±51.59	332.43±31.15

d'après l'observation travers les résultats des tableau IV.2., on peut conclure les points suivants:

Dans les échantillons étudiés, la teneur en polyphénols totaux est entre (170.75t mg/g 332.43 et mg/g) où la teneur dans l'échantillon (1/10) est de 332.43 mg/g qui représente la plus haute teneur, alors que dans l'échantillon (1/8) la valeur des polyphénols ne dépassait pas 170.75mg/g.

IV.4.2.2.Flavonoïdes totaux

Tableau .IV.3. La teneur des flavonoïde d'extraction des feuilles de *Phoenix dactylifera L*

Equation : Y=7.874x+0.022	extrait	Teneur en flavonoïde (mg/g) des échantillon.				
R ² =0.966		1/6	1/7	1/8	1/9	1/10
		126.32±0.147	83.65±8.72	121.61±0.816	104.23±0.147	95.93±0.147

Les résultats illustrés dans le tableau (IV.3) montrent que l'extrait à (1/6) contient 126.32±0.147 mg EQ/g, en suite l'extrait (1/8) avec 121.61±0.816 mg EQ/g en fin l'extrait (1/9) avec 104.23±0.147 mg EQ/g. Nous avons observé des teneurs rapprochées en flavonoïdes par l'extrait (1/10) et l'extrait (1/7), ceux-ci représentent des valeurs de 95.93± 0.147 et 83.65±8.72 mg EQ/g respectivement.

IV.4.2.3.Flavanols totaux

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la Rutine par gramme de la matière végétale sèche (mg /g).

Pour l'extraits étudiées de *Phoenix dactylifera L*, on a remarqué une différence des teneurs en flavanols totaux, La teneur la plus élevée est enregistrée dans les extraits (1/6),(1/7) et (1/8) elle est de l'ordre de 18.17±0.392, 17.43±0.85 et 12.94±0.728 mg /g, suivi par l'extrait (1/9) avec 12.64±0.164 mg /g, puis l'extrait avec une teneur de (1/10); 10.59±0.261 mg /g.

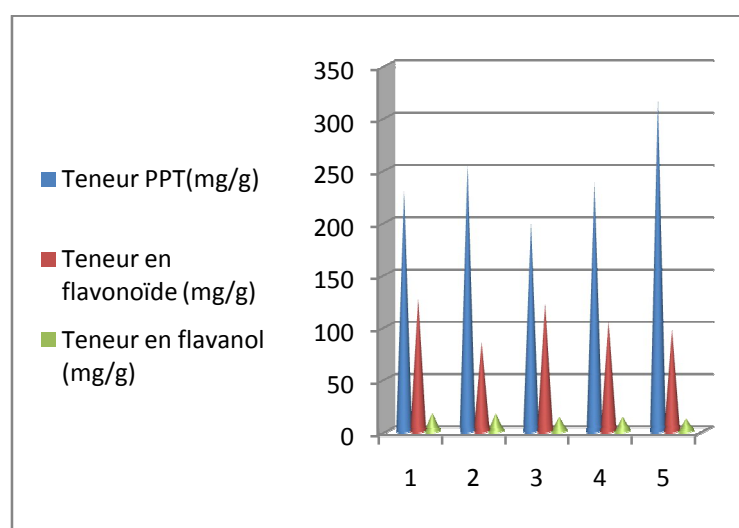
Tableau .IV.4: La teneur des flavanol dans des feuilles *Phoenix dactylifera L*

Equation : $Y=15.3x+0.1$	Extrait	Teneur en flavanol (mg/g) des échantillon .				
$R^2=0.992$		1/6	1/7	1/8	1/9	1/10
		18.17±0.392	17.43±0.85	12.94±0.728	12.64±0.164	10.59±0.261

L'impact de rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols est étudié avec des fractions (1/6, 1/7, 1/8, 1/9, 1/10) (figure .IV.6). L'augmentation de la fraction solide/liquide, a un effet négative sur l'extraction. En effet, le rapport solide/liquide de 1/6 représente le meilleur taux celui-ci permet d'extraire le meilleur taux . Au-delà de ce rapport, les taux diminuent.

IV.4.2.4. Composition d'extrait phénoliques :

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits étudiées sont représentés dans la (figure IV.6) :

Figure IV.6. Composition en composés phénoliques des feuilles *phoenix dactylifera L*

Les études des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal montrent que la présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des flavanols, est variable entre les fractions d'extraction solide/liquide .

Les tests phytochimiques montrent que la présence des polyphénols totaux et l'apparition de la formation d'un complexe bleu confirmé leur présence.

Les tests phytochimiques confirment la présence des flavonoides ,flavanol et l'apparition de la couleur jaune confirme leur présence, si bien que cette différence est due à plusieurs

facteurs: les conditions de culture , le degré de maturité , de la température ainsi que le type de solvant utilisé.

IV.4.3. Test d'évaluation d'activité antioxydante totale (PPM) :

Tableau IV.5. Résultat d'évaluation d'activité antioxydant totale

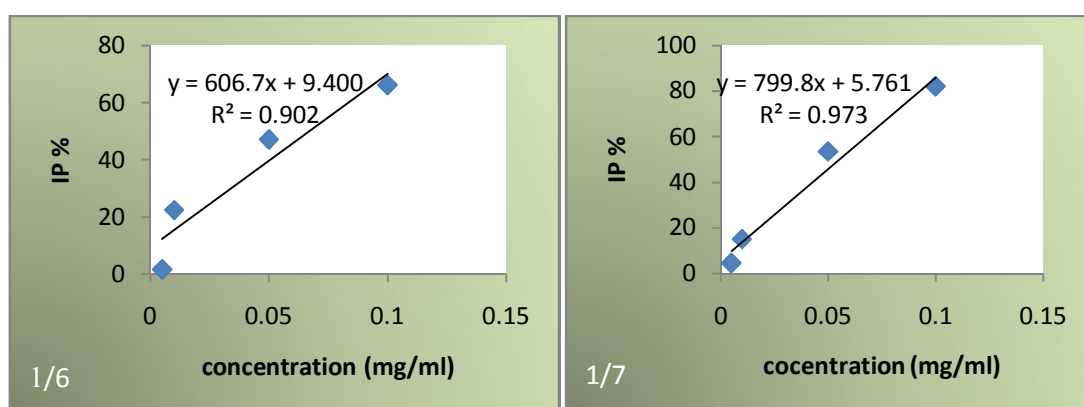
Equation $y=4.65x+0.087$ $R^2=0.958$	Extrait	Activité antioxydante totale (mg/g) d'extrait <i>phoenix dactylifera L</i>				
		1/6	1/7	1/8	1/9	1/10
		1070.25±23.59	1144.4±4.48	1374.91±4.94	1525.49±4.97	1088.89±1.2

Les résultats montre que tous les extraits présentent des activités antioxydantes considérables. L'extrait de (1/9) présente la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de (1525.49±4.97) mg /g ,suivi par l'extrait (1/8) avec (1374.91±4.94) et par l'extrait de (1/7) avec (1144.4±4.48) mg /g . Les deux extraits de (1/10) et (1/6) révèlent une activité réductrice de l'ordre de(1088.89±1.2) mg /g (1070.25±23.59) mg /g respectivement .

IV.4.4. Test d'évaluation d'activité antioxydante DPPH

- Test du 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyle (DPPH) est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité.



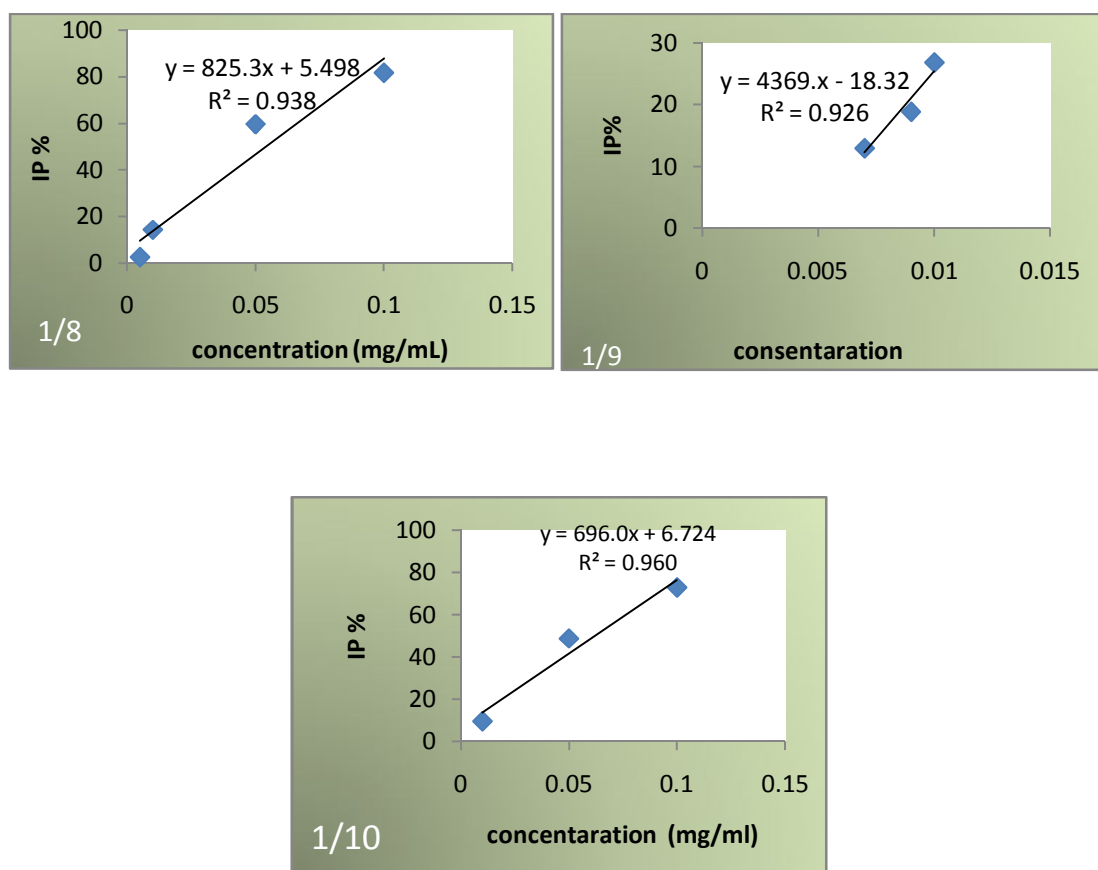


Figure IV.7. les courbe de différentes extrais de concentration en fonction IP%

Extrait de fraction (solide/liquide) (1/6)(1/7)(1/8)(1/9)(1/10).

• Résultats

L'inhibition du radical DPPH est fonction de la concentration des différents extraits utilisés (antioxydant), l'activité antiradicalaire de nos extraits est exprimée en IC_{50} déterminée

Tableau IV.6. Valeurs des IC_{50} du DPPH pour les extraits:

Extraits	A_0	Equation	R^2	IC_{50} (mg/g)
1/6	1.363	$y=606.7x+9.400$	0.902	0.066984615
1/7	1.363	$y=799.8x+5.761$	0.973	0.055312578
1/8	1.363	$y=825.3x+5.498$	0.938	0.05392221
1/9	0.832	$y=4369.x-18.32$	0.926	0.015637446
1/10	1.363	$y=696x+6.724$	0.960	0.062178161

A partir des résultats obtenus, la fraction d'extraction (1/9) donne la valeur de l'activité antioxydant la plus considérable comme les autres résultats, avec un valeur de 0.015637446mg/g.

IV.5.Influence des temps d'extraction :

L'influence des temps sur l'extraction des polyphénols de *phoenix dactylifera L* est étudiée avec les temps 30min; 40min; 50min; 60min . La prolongation le temps a un effet positif sur l'extraction. En effet, le temps d'extraction de 50min permet d'extraire le meilleur taux quelque soit le solvant étudié.

IV.5.1.Rendement

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau IV.7. Les rendements en extraits obtenus à partir de la plante.

Extrait sèche (Rapport 1/9) T=30°C					
L'échantillon	20min	30min	40min	50min	60min
Rendement%	12.75	9.39	10.53	12.92	11.3

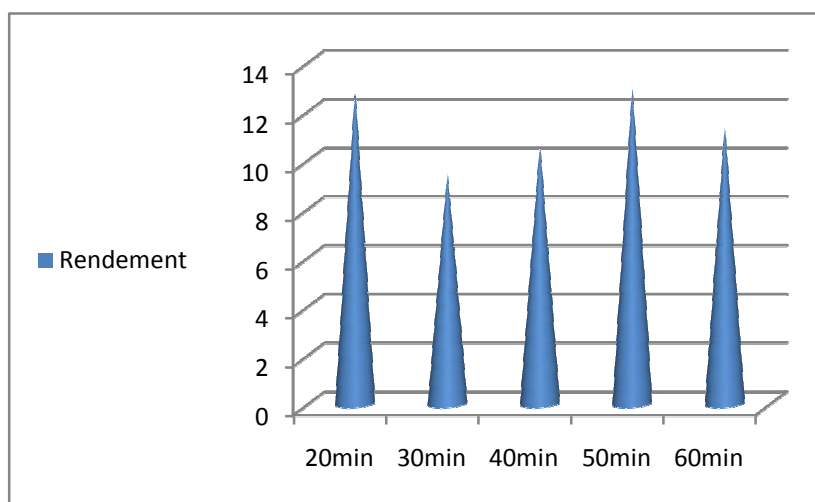


Figure.IV.8.Rendement d'extraction des composés phénoliques de 20 à 60 min

Notez une augmentation du rendement dans la période de temps (30 à 50), puis une diminution du rendement à temps de 60 minutes.

IV.5.2. Résultats de compositions phytochimiques

IV.5.2.1. Taux en polyphénols totaux :

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible de l'extrait de feuilles *Phoenix dactylifera L* étudiées sont représentés ci-dessous (tableau .IV.10). Dans cette composition nous trouvons que l'extrait 50 min quantitativement plus riche en composés phénoliques, puis l'extrait de 30min, et le plus faible l'extrait en faveur de 60 min.

Tableau .IV.8. Taux des polyphénols totaux d'extrait *phoenix dactylifera L*

Equation: $Y=6.618x+0.203$	extrait	Teneur en polyphénols totaux (mg/g) des échantillons T=30°C.				
$R^2=0.975$		20 min	30 min	40min	50 min	60 min
		937.69±19.01	723.28±37.26	163.19±15.57	279.54±7.56	99.919±35.43

IV.5.2.2. Flavonoïdes totaux

Tableau. IV.9. La teneur des flavonoïde dans d'extrait *Phoenix dactylifera L*

Equation :	extrait	Teneur en flavonoïde (mg/g) des échantillon. T=30°C				
$Y=7.874x+0.022$		20min	30 min	40 min	50 min	60 min
$R^2=0.996$		54.69±0.147	104.22±0.15	63.5±0.4	56.81±0.1	70.44±0.776

L'étude a révélé que les flavonoïdes présente d'une fluctuation dans les résultats obtenus; où revenir extraire le meilleur temps enregistré, de 30 min la valeur de 104.22mg/g

IV.5.2.3. Flavonols totaux.

Tableau. IV.10. La teneur des flavanols dans d'extrait *Phoenix dactylifera L*

Equation :	Extrait	Teneur en flavanol (mg/g) des échantillon .				
$Y=15.3x+0.1$		20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
$R^2=0.992$		7.63±1.42	7.073±2.056	9.019±0.224	10.042±0.975	9.08±0.141

La quantification de flavanol présente que le meilleur temps est 50min avec de (10.042) (mg/g) .

IV.5.3. Test d'évaluation d'activité antioxydant totale (PPM) :

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

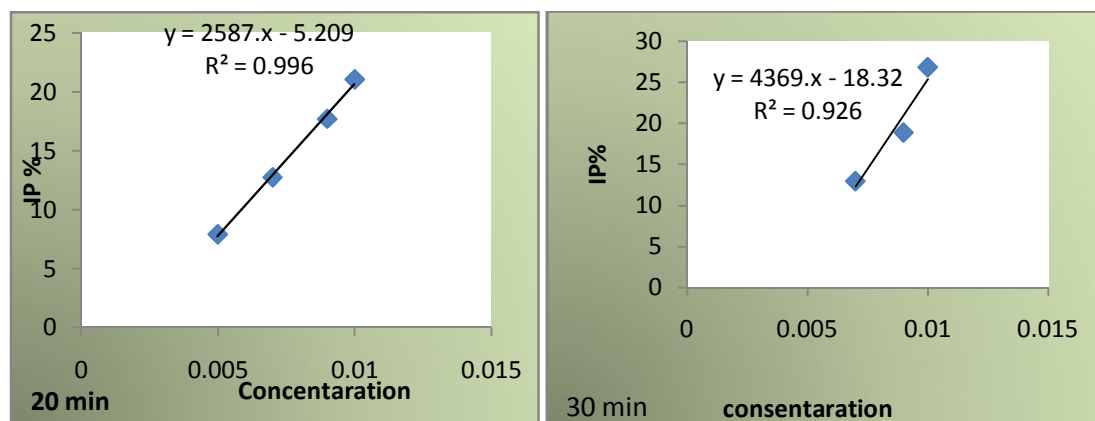
Tableau IV.11. Résultat d'évaluation d'activité antioxydant totale

Equation $y=4.65x+0.087$	Extrait	Activité antioxydante totale (mg/g) d'extrait <i>des feuilles phoenix dactylifera L</i>				
$R^2=0.958$		20min	30min	40min	50min	60min
		2756.98±11.38	2937.63±239.47	2808.6±581.84	2378.49±239.47	1991.39±74.49

Les résultats montre que tous les extraits présentent des activités antioxydantes considérables. Le temps d'extraction de 30min présente la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de (2937.63 mg /g) ,suivi par le temps 40min avec (2808.6mg/g)et par 20min avec (2756.98 mg /g) . Les deux extraits de 50 et 60min révèlent une activité réductrice de l'ordre de (2378.49mg/g), (1991.39 mg /g) respectivement .

IV.5.4. Test d'évaluation d'activité antioxydante DPPH

- Test du 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH) :



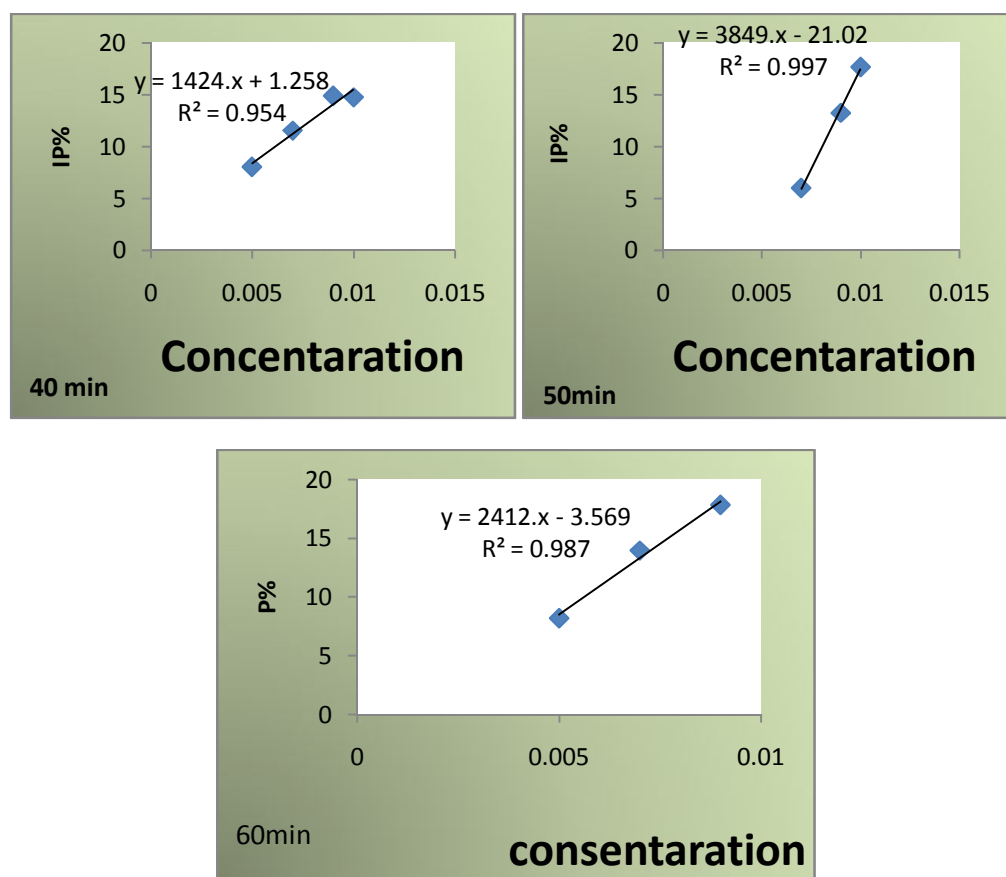


Figure IV.9. les courbe de différentes extrais de concentration en fonction IP%
Le temps d'extraction 20min, 30min, 40min, 50min, 60min.

- **Résultat**

Tableau. IV.12 : La teneur des DPPH dans d'extraction *Phoenix dactylifera L*

Extrais	A ₀	Equation	R ²	IC ₅₀
20 min	0.746	$y = 2587x - 5.209$	0.996	0.021340935
30 min	0.746	$y = 4369x - 18.32$	0.926	0.015662623
40 min	0.746	$y = 1424x + 1.258$	0.954	0.034228933
50 min	0.746	$y = 3849x - 21.02$	0.997	0.018451546
60 min	0.746	$y = 2412x - 3.569$	0.987	0.02220937

Le temps d'extraction de 30 min présent la valeur de l'activité antioxydante la plus considérable comme les autres résultats ,avec un valeur de 0.015662623mg/g ,suivi par le temps 50 min avec 0.018451546mg/g ,par 20 min avec 0.021340935mg/g , enfin les deux temps 60 et 40 min révèlent une activité DPPH réductrice de l'ordre de 0.02220937mg/g, 0.034228933mg/g respectivement .

✓ Discussion:

Ce travail a pour but de déterminer la fraction solide/liquide et le temps d'extraction des composés polyphénoliques à partir de feuilles de *Phoenix dactylifera L* en utilisant plusieurs rapports et en fixant le temps et la température d'une part, et d'autre part, nous avons fixé la température et la fraction optimisée en changeant le temps et afin d'optimiser le meilleur temps pour celle-ci, la technique utilisée pour l'extraction dans ce travail est basée sur l'ultrason.

Nos résultats montrent que la fraction solide/liquide 1/9 donne un meilleur rendement et un pouvoir antioxydant avec le test DPPH et PPM.

Ces résultats sont compatibles avec le principe du transfert de la matière, où la force de transmission durant ce transfert est le gradient de la concentration de soluté entre le solide et le liquide. Cette force devient importante lorsque la fraction solide/liquide utilisée est plus élevée (ALFARSI et LEE, 2007 ; GABORIAUD, 1996).

Concernant la fraction 1/10 qui est caractérisée par la diminution des teneurs en polyphénole totaux, nous pouvons dire que ce résultat peut être dû à l'intervention d'un autre paramètre (n'étant pas pris en considération dans cette étude, ou peut être dû à l'augmentation de l'eau dans le système de solvant d'extraction (alcool/eau), qui extrait des quantités importantes des composés non phénoliques comme les glucides, les protéines... susceptibles de polymériser avec les composés phénoliques ce qui conduit à la formation des complexes qui ne sont pas détectés par le test utilisé.

La fraction 1/9 est prise en considération dans les étapes suivantes de cette étude.

Concernant le temps d'extraction, d'après les résultats obtenus le temps optimal d'extraction trouvé est de 30 min et 50 min.

Le mécanisme du procédé d'extraction assistée par ultrasons ici comporte deux étapes principales. A dissolution des composants solubles sur des surfaces de la matrice de plante se produit, que l'on appelle également comme "laver". D'autre part, le transfert de masse de soluté à partir de la matrice végétale dans le solvant par diffusion et des processus osmotiques, qui est connu comme "extraction lente".

En effet, l'influence du temps d'extraction est très importante, car a un effet sur la teneur en polyphénols.

Cependant, La teneur en PPT de tous les échantillons analysées augmenté de façon constante en fonction du temps. Il y avait une tendance à goutte de la capacité antioxydant après 40 min. Ceci peut être expliqué par l'effet de chauffage de la surexposition au traitement par ultrasons pour rallonger le temps de l'extraction, ce qui conduit à la dégradation de la propriété anti-oxydante des extraits.

CONCLUSION

Les feuilles de *phoenix dactylifera L* est une source potentielle riche en polyphénols, a fin d'obtenir la performance maximale d'extraction nous avons utilisé l' ultrasons.

La présente étude a été réalisée pour contribuer à l'optimisation des conditions opératoires d'extraction des composés phénoliques dans les feuilles de *phoenix dactylifera L*.

L'extraction assistée par ultrasons a révélé être une technique très efficace pour l'extraction de composés phénoliques. Les extraits obtenus par cet technique contient des teneurs de composés phénoliques par rapport à la macération (extraction classique). En effet, L'extraction par ultrasons permet d'accroître le rendement d'extraction dans un temps court, ce qui réduit l'apport d'énergie et de la dégradation de composés phénoliques. En outre, les extraits obtenus par ultrasons ont apparus une activité anti-oxydante élevée que les extraits obtenus par des techniques classiques d'extraction .

Pour une extraction efficace et optimale des composés phénoliques de feuille de *phoenix dactylifera L* , en résumant les différentes étapes d'extraction menées sous différentes conditions.

- ✓ La fraction solide /liquide affecte de façon significative la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux ; la meilleure fraction trouvée est 1/9 .
- ✓ Le temps d'extraction optimale pour l'extraction des polyphénols à 30 min et 50 min.

D'autres paramètres qui ne sont pas étudiés dans ce travail et qui peut être influent sur le rendement d'extraction, peuvent servir de perspectives pour optimiser au mieux l'extraction en vue de son utilisation à l'échelle industrielle. D'autres critères peuvent être ajoutés en plus du rendement en PPT, tels que les différentes familles polyphénols et les différentes activités biologiques.

الملخص

يتضمن العمل دراسة أوراق شجرة النخيل "*Phoenix dactylifera L*" التي تمثل أهمية كبيرة لحياة سكان وادي سوف ، وقد استخدمت منذ قرون كدواء ضد الحساسية والالتهاب والإمساك وأمراض المعدة وتستخدم أيضا كمضاد حيوي للجراثيم والأكسدة.

ويهدف هذا العمل إلى دراسة وتفضيل طريقة استخراج مادة البوليفينول من أوراق النخيل بواسطة الموجات فوق الصوتية. ذلك من أجل تحسين ظروف استخراج هذه المادة ، حيث استخدمنا عدة نسب (عينة \ المذيب) من أجل اختيار أفضل قيمة ووقت الاستخراج الضروري الذي يعطينا أفضل كمية من هذه المادة.

أظهرت النتائج أن أفضل نموذج العينة \ المذيب (9\1) ويتم استخراج مادة البوليفينول الأمثل في زمن 30 دقيقة و50 دقيقة.

أعطى مستخلص أوراق النخيل استخراج لمضادات الأكسدة جيدة جدا باستخدام DPPH و PPM مع نسبة (9\1) ووقت استخراج 30 دقيقة .

دراسات أخرى تهدف إلى تقييم هذه النتائج باستخدام معالم وتقنيات استخراج أخرى والتي يمكن أن تعطي نتائج أفضل.

الكلمات المفتاحية: أوراق النخيل (*phoenix dactylifera L*)، الاستخراج بالموجات فوق الصوتية، التفضيل، بوليفينول، مضادات الأكسدة، DPPH.

Résumé

Ce travail comprend une étude sur des feuilles de palmier dattier "*Phoenix dactylifera L*", qui représente une grande importance pour la vie de la population du "Oued Souf", Il a été utilisé depuis des siècles comme un médicament contre allergie, l'inflammation, la constipation et gastro protecteur; ils ont aussi une haute antibactérien et l'activité anti-oxydante.

Ce travail a pour but d'étudier et optimiser la méthode d'extraction des polyphénols a partir des feuilles de palmiers par l'ultrason. En effet, pour améliorer les conditions d'extraction des polyphénols, nous avons utilisé plusieurs fractions (échantillon /solvant) afin de choisir le meilleur rapport et le temps d'extraction nécessaire qui nous donne meilleurs extraction.

Les résultats obtenus montrent que le meilleur fraction échantillon /solvant est de (1/9) et l'extraction optimale des polyphénols se fait dans un temps de 30 min et 50 min.

L'extraire de feuilles de palmiers a donné un très bon pouvoir antioxydant en utilisant le DPPH et PPM avec le fraction 1/9 et dans un temps d'extraction de 30min.

Des études supplémentaire vise à évaluer ces résultats en utilisant des autres paramètres et techniques d'extraction qui peuvent donner un meilleurs rendement.

Mots clés: feuilles de palmiers dattier(*phoenix dactylifera L*), extraction par ultrason, optimiser, polyphénols, antioxydant, DPPH.

Abstract

This work includes a study of palm leaves dattier "*Phoenix dactylifera L*", which represent great importance for the life of the people of "Oued Souf", It has been used for centuries as a medicine against allergy, inflammation, constipation and gastro protective, they also have a high antibacterial and antioxidant activity.

This work aims to study and optimize the method of extraction of polyphenols from palm leaves by ultrasound. Indeed, to improve polyphenol extraction conditions, we used several reports (sample / solvent) in order to choose the best value and the necessary extraction time which gives us the best extraction.

The results obtained show that the best value sample / solvent is (1/9) and optimum polyphenol extraction is done in a time of 30 min and 50 min.

The extract palm leaves gave a very good antioxidant using DPPH and PPM with the 1/9 ratio and an extraction time of 30min.

Of additional studies intended to evaluate these results using other parameters and extraction techniques that can give a better performance.

Keywords: leaves of date palms (*phoenix dactylifera L*), ultrasonic extraction, optimize, polyphenols, antioxidant, DPPH.