



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de

l'Univers

Département de biologie

Laboratoire LAPRONA



Mémoire Présenté par **Belbachir Nadjjet** et **Belaid Nihel**

*En vue de l'obtention du* **diplôme de Master en Sciences Biologiques**

*Option* **Biochimie appliquée**

Thème

**Activité antioxydante des noyaux de  
*Phoenix dactylifera* L. variété « Ajwa**

Soutenu le **06/07/2021**, devant le jury composé de :

**Présidente :** M<sup>me</sup> **BOUCHERIT OTMANI Zahia** Pr Université de Tlemcen

**Examinatrice :** M<sup>lle</sup> **MEZOUAR Dounia** MCB Université de Tlemcen

**Promoteur :** M<sup>r</sup> **CHAOUCHE Mohamed Tarik** MCA Université de Tlemcen

**Année universitaire 2020/2021**

## Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu de nous avoir donné le pouvoir de raisonner et d'exploiter les vérités de l'univers et le tout puissant qui nous a donné la patience, la force et le courage pour pouvoir mener à terme ce travail.

\*\*\*

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire des produits naturels « **LAPRONA** » faculté de sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers. On exprime notre reconnaissance la plus sincère à Mme Belarbi responsable du laboratoire pour nous avoir apporté l'aide moral et matériel nous permettons de travailler dans les meilleures conditions.

\*\*\*

Nos remerciements les plus profonds vont à mon encadreur **Mr Chaouche Tarik Mohammed** maître de conférences classe « A » au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses encouragements, son aide, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience afin de mener à bien notre mémoire.

\*\*\*

Nous remercions Mme **Boucherit-Otmani Zahia** professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen d'avoir accepté de présider les membres du jury.

Nous remercions **M<sup>elle</sup> Mezouar Dounia** au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen d'avoir accepté d'examiner notre travail

\*\*\*

Nous remercions également **M<sup>elle</sup> Abbou Fayza** doctorante au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour son aide, ses conseils, ces encouragements et sa gentillesse.

On remercie également l'ensemble du personnel qui m'a porté son soutien et leur aide : étudiants, doctorants, techniciennes, et tous ceux que je ne pourrais citer individuellement

## *Dédicaces*

*Je dédie cet événement marquant de ma vie,*

*À la mémoire de mes défunts parents, j'espère que du monde qui est leur maintenant, qu'ils apprécient cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de leur fille qui a toujours priée pour le salut de leurs âmes. Puisse Dieu le Tout-Puissant, les avoir en sa sainte miséricorde.*

*Je remercie ma maman Lila, qui sans elle je ne serai pas arrivé là aujourd'hui, je lui en suis reconnaissante, pour son aide, ses précieux conseils et son amour.*

*Je remercie mon frère Mustapha et mes sœurs Imene et Lila, Ikram, mes beaux-frères Sofiane et Sidi Mohamed pour m'avoir soutenu et encouragé jusqu'au bout.*

*A mes petits neveux Esmaa Houria, Meriem, Ayoub, Nihel, Ibtissem, Soumia et Anas mes rayons de soleil.*

*A ma grand-mère Hbibba, qui ne cesse de m'emplir de ses prières, que Dieu lui accorde santé et longue vie.*

*Je remercie mon deuxième papa Fethi, à ma tante Amel et mes chères cousines.*

*Un remerciement spécial pour mes meilleures amies Lounzya, Zakia, Ghizlene, Amira Ikram, et ma coéquipière dans ce travail Nihel, pour leur amour et leur soutien dans les moments de difficultés, je vous en suis reconnaissante du fond de mon cœur.*

*Ma reconnaissance envers mes mamans de cœur Zoubida, Latifa, et Rachida, Zahira.*

*Je remercie tous les membres de la famille Belbachir, Mrabet et Riah pour m'avoir entouré d'amour et d'encouragement.*

*Nadjet.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à,*

*Mes très chers parents, ma source de force dans la vie, qui sans eux je ne serai pas arrivée là aujourd'hui, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me transmettre, que dieu leurs procure bonne santé et longue vie.*

*Je remercie mes frères Abdenour et Louay pour m'avoir soutenu et encouragé jusqu'au bout.*

*Mon fiancé Abdelatif qui partage avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Merci pour son support chaleureux et encouragement tout au long de mon parcours.*

*Je remercie ma chère grand-mère Hadja Aicha, que ce modeste travail, soit l'expression des vœux qu'elle a cessé de formuler dans ces prières. Que Dieu te préserve santé et longue vie.*

*A mes chers cousines et cousins qui m'ont toujours encouragé.*

*Un remerciement spécial pour mes meilleures amies Lounzya, Zakia, Ghizlene, Ikram, Tema, Soumia, Nour el houda, pour leur amour et leur soutien dans les moments difficiles, je vous remercie du fond du cœur.*

*Je dédie ce mémoire à moi-même, pour tous mes efforts et à ma coéquipière Nadjet pour sa sympathie chaleureuse, et son appui inestimable.*

*Je remercie tous les membres de la famille Belaïd, Ali ben cherif, Zenasni pour m'avoir entouré d'amour et d'encouragement.*

*Nihel.*

## ملخص

تمور *Ajwa Phoenix dactylifera L.* هي شعار أرض الصحراء الشرقية. لها قيمة دينية وطبية واقتصادية. نواة تمور العجوة كانت موضوع دراسات عديدة، من حيث التركيب في المواد الكيميائية النباتية، ومضادات الأكسدة ذات التأثيرات العلاجية، من أجل دمجها في تركيبات علاج العديد من الأمراض.

الهدف من هذا العمل هو تحديد محتوى نواة تمور العجوة في المركبات الفينولية (البوليفينول الكلي، الفلافونويد، العفص المكتف)، وتقييم القدرة المضادة للأكسدة بطرق مختلفة في المختبر.

يتم تحضير مستخلص مسحوق نواة التمر من خلال عمليتي استخلاص بواسطة جهاز Soxhlet ، الأولى بالهكسان لشفط الدهون، والثانية بالخلط مع حجم مكافئ من المذيبات القطبية المتزايدة (ميثانول، إيثانول، أسيتون). يتم تحديد محتوى البوليفينول بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu ، الفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم والعفص بواسطة Vanillin HCl يتم تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة CAT و DPPH و FRAP و ABTS.

محتويات البوليفينول الكلي، الفلافونويد والعفص واعدة للغاية، مع 3,645 مغ/ES EAG ؛ 2,558 مغ/ EC غ ES ؛ 3.605 مغ/ EC غ ES على التوالي. إجمالي السعة المضادة للأكسدة التي تم الحصول عليها إلى 0.482 مغ/ EAA غ ES، يمثل اختبار DPPH النشاط الأكثر أهمية 0.0112 ميكروغرام / مل، تثبيط الجذور 81.739 ABTS ميكروغرام / مل، وإمكانية ارجاع الحديد لكميات مستخلص نواة العجوة إلى 416.66 ميكروغرام / مل.

تحتوي نواة التمر على نسبة عالية من مضادات الأكسدة الطبيعية التي تساهم في تطوير المكملات الطبية والغذائية لعلاج الأمراض المختلفة المتعلقة بالإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية:** *Phoenix dactylifera L.* العجوة، نواة. نشاط مضادات للأكسدة، مركبات الفينولية.

## Abstract

The dates Ajwa *Phoenix dactylifera* L. is the emblem of the Saharan eastern countries, they have religious, medicinal, and economic value. Ajwa date pits have been the subject of several studies, concerning their composition in phytochemical and antioxidant molecules with therapeutic effects, in order to integrate them into the formulations of treatment of many pathologies.

The objective of this work is to determine the content of Ajwa date pits in phenolic compounds (total polyphenols, total flavonoids, condensed tannins) and to assess antioxidant capacity by various in vitro methods.

The extract of the kernel powder is prepared by two successive extractions by Soxhlet, the first by hexane for fat removal, the second by a mixture of polar solvents (methanol, ethanol and acetone). The polyphenol content is determined by the Folin-Ciocalteu method, the flavonoids by the aluminium trichloride method and the tannins by the HCl vanillin. Antioxidant activity is evaluated by CAT, DPPH, FRAP and ABTS.

The contents of total polyphenols, flavonoids and tannins are very promising, 3, 645 mg EAG/g ES; 2,558 mg EC/g ES; 3,605 mg EC/g ES respectively. The total antioxidant capacity obtained is estimated at 0.482 mg EAA/g ES, the DPPH test represents the most important activity 0.0112 µg/ml, the trapping of the ABTS radical 81.739 µg/ml, the reduction potential of iron by Ajwa core extract is 416.66 µg/ml.

Ajwa date pits are high in natural antioxidants that contribute to the development of drug and food supplements for the treatment of various oxidative stress-related diseases.

**Key words:** *Phoenix dactylifera* L., Ajwa, seed, antioxidant activity, phenolic content.

## Résumé

Les dattes Ajwa *Phoenix dactylifera* L. est l'emblème des pays orientaux sahariens, elles ont une valeur religieuse, médicinale, et économique. Les noyaux de dattes Ajwa ont fait l'objet de plusieurs études, quant à leur composition en molécules phytochimiques-et antioxydants aux effets thérapeutiques, afin de les intégrer dans les formulations de traitement de nombreuses pathologies.

L'objectif de ce travail est de déterminer la teneur des noyaux de datte Ajwa en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, tanins condensés) et d'évaluer la capacité antioxydante par différentes méthodes *in vitro*.

L'extrait de la poudre de noyaux est préparé par deux extractions successives par Soxhlet, la première par l'hexane pour l'élimination de matière grasse, la deuxième par un mélange à volume équivalent de solvants polaires (méthanol, éthanol et acétone). La teneur en polyphénols est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium et les tanins par la vanilline HCl. L'activité antioxydante est évaluée par la CAT, DPPH, FRAP et ABTS.

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins sont très prometteuses, 3,645 mg EAG/g ES ; 2,558 mg EC/g ES ; 3,605 mg EC/g ES respectivement. La capacité antioxydante totale obtenue est évaluée à 0,482 mg EAA/g ES, le test au DPPH représente l'activité la plus importante 0,0112 µg/ml, le piégeage du radical ABTS 81,739 µg/ml, le potentiel de réduction du fer par l'extrait de noyau d'Ajwa s'élève à 416,66 µg/ml.

Les noyaux de dattes Ajwa présentent une forte teneur en antioxydants naturels qui contribuent à l'élaboration de compléments médicamenteux et alimentaires pour le traitement de diverses maladies liées au stress oxydatif.

**Mots clés :** *Phoenix dactylifera*, Ajwa, noyaux, composés phénoliques, activité antioxydante.

## Table des matières

<b>Introduction générale</b>	<b>14</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>1</b>
<b>I Bibliographie</b>	<b>4</b>
<b>1- La phytothérapie</b>	<b>4</b>
<b>2- Les plantes médicinales</b>	<b>4</b>
<b>3- Les métabolites secondaires</b>	<b>4</b>
<b>3.1- Les composés phénoliques</b>	<b>4</b>
3.1.1- Les tanins	5
3.1.2- Les flavonoïdes	6
<b>3.2- Les composés azotés « alcaloïdes »</b>	<b>6</b>
<b>3.3- Les terpénoïdes</b>	<b>6</b>
<b>4- L'activité antioxydante et stress oxydatif</b>	<b>7</b>
<b>4.1- Radicaux libres</b>	<b>7</b>
<b>4.2- Stress oxydatif</b>	<b>7</b>
4.2.1- Origines	7
4.2.2- Conséquences	8
<b>4.3- Système de défense antioxydant</b>	<b>8</b>
4.3.1- Système antioxydant enzymatique	8
4.3.2- Système antioxydant non enzymatique	9
<b>II Etude botanique de la plante <i>Phoenix dactylifera</i> L.</b>	<b>11</b>
<b>1- Historique et origine</b>	<b>11</b>
<b>2- Systématique de la plante</b>	<b>11</b>
<b>3- Description et aspect général de <i>P. dactylifera</i> L.</b>	<b>12</b>
<b>4- Répartition géographique de <i>P. dactylifera</i> L.</b>	<b>12</b>
<b>5- Variétés de dattes disponibles en Algérie</b>	<b>13</b>
<b>6- Composition chimique de <i>P. dactylifera</i> Ajwa</b>	<b>14</b>
<b>7- Transformations technologiques issues des palmiers dattiers</b>	<b>14</b>
<b>8- Utilisation traditionnelle de la plante</b>	<b>14</b>
<b>9- Travaux précédents :</b>	<b>15</b>
<b>III Partie expérimentale</b>	<b>17</b>

<b>1- Matériel végétal</b>	<b>17</b>
1.1- Choix et récolte des dattes	17
1.2- Préparation du matériel	17
1.3- Extraction et préparation de l'extrait	18
<b>2- Protocoles expérimentaux et quantification de certains composés phénoliques dans l'extrait</b>	<b>18</b>
2.1- Dosage des polyphénols totaux	18
2.2- Dosage des flavonoïdes totaux	19
2.3- Dosage des tanins condensés	20
<b>3- Evaluation des activités biologiques, <i>in vitro</i></b>	<b>21</b>
3.1- Détermination de l'activité antioxydante	21
3.1.1- La capacité antioxydante totale (CAT)	21
3.1.2- Le piégeage du radical DPPH	21
3.1.3- Piégeages du radical ABTS <sup>•+</sup>	22
3.1.1- Le pouvoir réducteur du fer (FRAP)	23
<b>IV Interprétation</b>	<b>25</b>
<b>1- Rendement des deux extractions par Soxhlet</b>	<b>25</b>
<b>2- Evaluation de la teneur en composés phénoliques</b>	<b>25</b>
2.1- Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins	26
<b>3- Evaluation de la capacité antioxydante</b>	<b>28</b>
3.1- Capacité antioxydante totale	28
3.2- Piégeage du radical DPPH	29
3.1- Piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup>	30
3.2- Pouvoir réducteur du fer	32

# Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Noyau phénol _____	4
<b>Figure 2:</b> structure chimique d'un tanin gallique. _____	5
<b>Figure 3:</b> structure chimique d'un tanin condensé ( <b>Guignard 1996</b> ). _____	5
<b>Figure 4 :</b> Unité flavone _____	6
<b>Figure 5:</b> Unité isoprène _____	6
<b>Figure 6 :</b> Schéma d'un radical libre _____	7
<b>Figure 7 :</b> Facteurs et conséquences du stress oxydatif _____	8
<b>Figure 9:</b> Etapes de la préparation de la poudre de noyaux de dattes Ajwa _____	17
<b>Figure 10:</b> Génération du radical ABTS par un oxydant. _____	22
<b>Figure 11:</b> Rendement des deux extractions par Soxhlet. _____	25
<b>Figure 12:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux. _____	26
<b>Figure 13:</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes. _____	26
<b>Figure 14:</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins. _____	27
<b>Figure 15:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de l'activité antioxydante totale. _____	28
<b>Figure 16:</b> Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait. _____	29
<b>Figure 17:</b> Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations du BHA. _____	29
<b>Figure 18:</b> Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des différentes concentrations de l'extrait. _____	31
<b>Figure 19:</b> Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des différentes concentrations du Trolox. _____	31
<b>Figure 20 :</b> Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait. _____	32
<b>Figure 21:</b> Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations du BHA. _____	33

# Liste des photos

<i>Photo 1: Phoenix dactylifera L.</i> .....	11
<i>Photo 2: Dattes Ajwa.</i> .....	12
<i>Photo 3: Régions de culture du palmier dattier en Algérie.</i> .....	12
<i>Photo 4: Noyaux d'Ajwa.</i> .....	17
<i>Photo 5: Poudre de noyau d'Ajwa.</i> .....	17

# Liste des tableaux

<i>Tableau 1: Principales variétés de dattes algériennes et leur aire de culture. (Dubost,1991).</i>	13
<i>Tableau 2: Protocole de dosage des polyphénols totaux.</i>	19
<i>Tableau 3: Protocole de dosage des flavonoïdes.</i>	20
<i>Tableau 4: Protocole de dosage des tanins.</i>	20
<i>Tableau 5: Teneurs en composés phénoliques dans l'extrait sec de la poudre de datte Ajwa.</i>	27
<i>Tableau 8: Concentrations inhibitrices à 50% de l'extrait et du Trolox.</i>	32

## Liste des abréviations

**ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**CAT** : capacité antioxydante totale.

**CE<sub>50</sub>** : concentration efficace à 50%.

**CI<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%.

**DPPH** : le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

**ERO** : Espèces réactives d'oxygène.

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power.

**IDF** : fibres alimentaires insolubles.

**SDF** : fibres alimentaires solubles.

**TDF**: fibres alimentaires totales.

**UPLC-QTOF-ES**: ultra-performance liquid chromatography coupled to quadropole time of flight mass spectrometry.

## *Introduction générale*

### Introduction générale

Depuis la nuit des temps, l'homme s'inspira de son milieu naturel pour répondre à ses besoins, il en tira profit et améliora son mode de vie. La flore végétale faisant partie intégrante du quotidien humain, l'évolution de la science des plantes, leurs applications dans le domaine médicinal, cosmétique, et agroalimentaire ont pris un nouvel essor.

Le soin par les plantes était considéré comme la seule solution aux maux, mais avec l'apparition de la pharmacologie, les médicaments aux principes actifs de synthèses ont devancé la médecine classique. Dans les dernières décennies, avec l'apparition de nouvelles pathologies, causées essentiellement par l'ingestion de produits d'origine synthétique, la pollution atmosphérique, le stress et bien d'autres facteurs ont provoqué l'altération de la santé.

Actuellement les scientifiques se penchent sur la découverte de molécules d'origine végétale afin de les incorporer dans les formulations médicamenteuses, et alimentaires.

Le stress oxydant est devenu la pathologie la plus répandue de nos temps, bien que la plupart des êtres ne mesurent pas sa gravité. Il est responsable de plusieurs maladies : diabète, cancers, neuropathies, stérilités... Les antioxydants présents dans les aliments ne suffisent pas à la neutralisation des radicaux libres présents à de fortes concentrations dans l'organisme, c'est pour cela que les présentes études sont axées sur les antioxydants d'origine naturelle.

En Algérie, les dattes et spécialement Deglet Nour sont le fruit le plus consommé notamment en période de jeûne, les dattes possèdent des vertus thérapeutiques innombrables : anti-inflammatoire, cardioprotecteur, antibiotique et autres. Les noyaux de dattes sont très riches en antioxydants, métabolites secondaires et en oligoéléments essentiels au maintien de l'équilibre de l'organisme. Notre étude s'est portée sur les noyaux de dattes Ajwa, d'origine algérienne cultivée à Touggourt près de la wilaya de Biskra.

Ce travail rentre dans le cadre de la valorisation des sous-produits, nous nous sommes intéressés à la détermination des teneurs en composés phénoliques qui confèrent aux plantes la capacité de neutralisation des radicaux libres ; l'évaluation de des activités antioxydantes par différentes méthodes *in vitro* : CAT, DPPH, FRAP, ABTS.

Notre travail se présente en 3 chapitres de la façon suivante :

**Au chapitre 1** nous abordons les sujets en relation avec le stress oxydatif, et système de défense en premier lieu, et une vue d'ensemble à propos du *Phoenix dactylifera* en deuxième lieu.

**Au chapitre 2** nous présentons les différents dosages et protocoles suivis par l'évaluation des différents paramètres nécessaires à la détermination du potentiel antioxydant de la poudre de noyaux d'Ajwa.

**Au chapitre 3** nous exposons l'ensemble des résultats obtenus lors de nos manipulations, la discussion ainsi que les perspectives et projets futurs.

## *Bibliographie*

*Partie 1.*

*Phytothérapie et plantes médicinales*

## I Bibliographie

### 1- La phytothérapie

Le mot « phytothérapie » vient des termes grecs *therapeia* = traitement et *phyton* = plante qui veut dire « thérapie par les plantes ». C'est l'une des plus anciennes pratiques thérapeutiques utilisées par l'homme. Son origine remonte à 8500 avant J.C, elle se base sur les connaissances et les expériences populaires. Cette pratique correspond à l'utilisation d'une plante médicinale spontanée ou cultivée, et à usage thérapeutique du tout ou d'une partie de celle-ci pour le traitement des maladies.

De nos jours, les pratiques médicinales végétales ont une grande popularité, en tant que médecine complémentaire et alternative, dans les pays les plus développés et continuent d'être le principal soin dans les pays les moins avancés, en raison de leurs faibles coûts et de leurs accès faciles (Fürst et Zündorf, 2015 ; Oliveira, 2018).

### 2- Les plantes médicinales

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une partie d'elle possède des propriétés médicamenteuses (Bruneton, 1999). La plupart des plantes médicinales sont des espèces endémiques. Leurs propriétés médicinales sont principalement dues à la présence de métabolites secondaires, qui répondent aux stimuli dans les environnements naturels qui peuvent ne pas être exprimés dans des conditions de culture (Figueiredo et al., 2009 ; Coley et al., 2003).

Les plantes médicinales sont un réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matière essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997).

### 3- Les métabolites secondaires

Ce sont des composés organiques qui par exclusion ne font pas partie du métabolisme primaire. Ils ne participent ni à la survie, ni à la croissance des organismes végétaux, mais jouent un rôle important dans la défense contre les différentes attaques du milieu extérieur (herbivores, agents pathogènes et les insectes), et aussi jouent un rôle dans la dissuasion alimentaire (Bennett, 1994).

Les métabolites secondaires constituent un groupe de composés bioactifs aux divers usages, principes actifs de quelques médicaments, produits cosmétiques, additifs alimentaires, et autres (Bruneton, 1999).

#### 3.1- Les composés phénoliques

Ce sont des métabolites secondaires contenus dans certaines plantes médicinales, possédant un ou plusieurs noyaux phénol (figure 01). Les polyphénols s'étendent entre des molécules simples, telles que les acides phénoliques, et des composés fortement polymérisés, tels que les tanins (Lugasi et al., 2003).

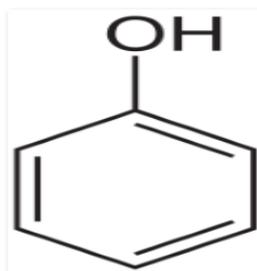
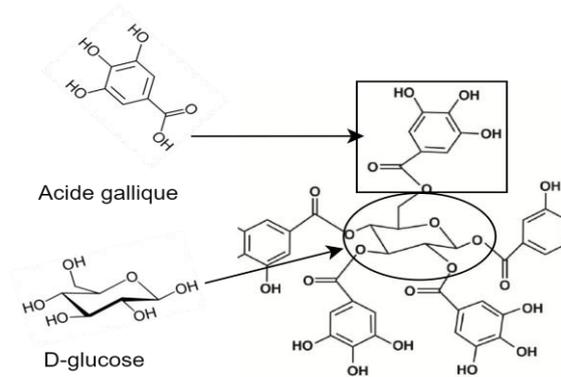


Figure 1: Noyau phénol

### 3.1.1- Les tanins

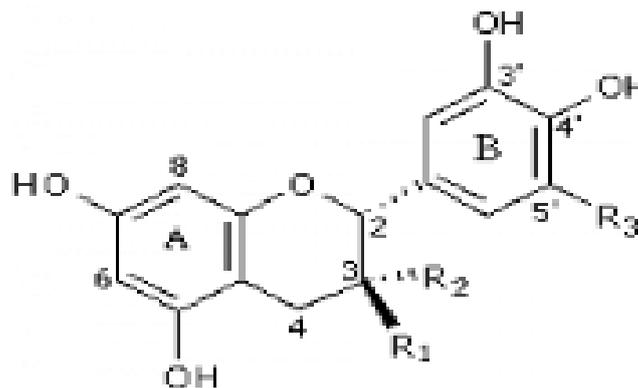
C'est un terme qui provient du verbe tanner, et qui veut dire traiter la peau des animaux pour en faire du cuir. Ce sont des dérivés phénoliques capables de se fixer aux protéines et les dénaturer. On distingue deux grands groupes de tanins :

- Tanins hydrolysables : dont la structure de base est un glucide, généralement le glucose où le radical hydroxyle forme une liaison ester avec l'acide gallique ou l'acide éllagique, les résidus d'acide gallique se lient pour former un polymère de grande taille (**fig. 2**).



**Figure 2:** structure chimique d'un tanin gallique.

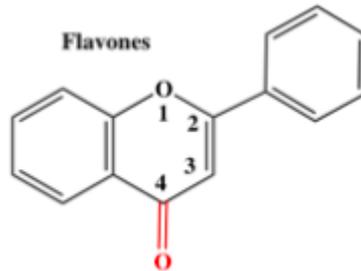
- Tanins condensés / proanthocyanidines : ce sont des polymères d'unités flavonoïques, reliées par de fortes liaisons carbone-carbone non hydrolysables (**fig. 3**), mais facilement oxydables par des acides forts (**Raven et al., 2003**).



**Figure 3:** structure chimique d'un tanin condensé (**Guignard 1996**).

### 3.1.2- Les flavonoïdes

Ce sont des composés phénoliques dérivés du phenylpropane, dont la structure de base est une flavone. Ce sont des pigments qui contribuent à la coloration des différentes parties de la plante (pétales, bractées, fruits...). Il existe environ une douzaine de familles de flavonoïdes qui ne diffèrent que par l'état d'oxydation du noyau hétérocyclique. Les plus abondantes sont les flavones (**fig. 4**), flavanols, isoflavones, anthocyanidines (**Raven et al., 2003**).



**Figure 4 :** Unité flavone

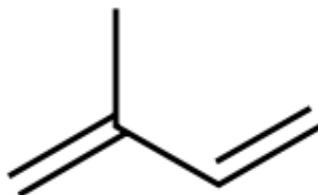
### 3.2- Les composés azotés « alcaloïdes »

Ce sont des composés organiques hétérocycliques, contenant au moins un atome d'azote. Ils sont synthétisés à partir de plusieurs acides aminés différents (tryptophane, lysine, tyrosine, arginine...), ils sont classés en fonction de la nature du cycle prédominant (**Hopkins, 2003**). Ils provoquent différentes réactions biologiques dans les organismes vivants, variant du bénéfique et thérapeutique à de faibles doses, au toxique et nocif à de fortes doses.

### 3.3- Les terpénoïdes

Ce sont des métabolites secondaires très répandus dans le règne végétal, ces molécules généralement lipophiles se composent d'une succession d'unités isoprène à 5 carbones formant des cycles ou des chaînes aliphatiques (**figure 5**) (**Hopkins, 2003**).

Les terpènes sont des hydrocarbures très volatils, avec des différences structurales qui les rendent biologiquement actifs. Ils sont largement utilisés dans le traitement de divers cancers tel que le Taxol et ses dérivés, le traitement antipaludique tel que l'artémisinine, et en industrie cosmétique tels que parfums et arômes (**Perveen, 2018**).



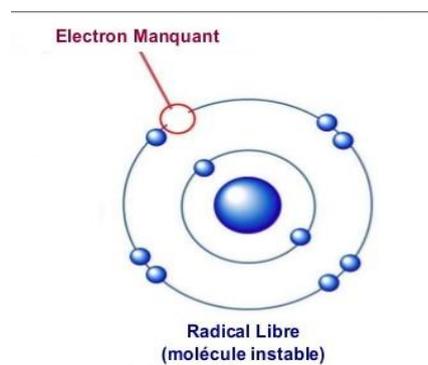
**Figure 5:** Unité isoprène

Les métabolites secondaires ne sont pas limités à ceux mentionnés ci-dessus, les coumarines, les saponosides, les quinones, les anthocyanosides, que nous ne citerons pas en détail dans notre étude.

#### 4- L'activité antioxydante et stress oxydatif

##### 4.1- Radicaux libres

Les radicaux libres sont des intermédiaires chimiques des réactions biologiques, d'une durée de vie réduite, contenant un ou plusieurs électrons non appariés (électron célibataire dans le dernier orbital) (**figure 6**) (**Sanocka et Kurpisz, 2004**), qui leur confère un fort degré de réactivité. On dit qu'ils sont un mal nécessaire à la cellule, car ils jouent un rôle dans l'origine et l'évolution de la vie. Ces radicaux sont importants pour activer différentes voies de signalisation à l'intérieur de la cellule (**Cho et Wolkenhauer, 2003**).



**Figure 6** : Schéma d'un radical libre

##### 4.2- Stress oxydatif

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent les cellules ou un tissu, lorsqu'ils sont soumis à une surproduction (endogène ou exogène) de radicaux libres oxygénés dépassant leurs capacités antioxydantes (**Favier, 2003**). La génération contrôlée des radicaux est un mécanisme essentiel à la signalisation cellulaire qui participe au maintien de l'homéostasie de la cellule (**Migdal et Serres, 2011**).

##### 4.2.1- Origines

Dans des conditions physiologiques normales, les molécules réactives à l'oxygène ROS sont constamment absorbées par des réactions de défense antioxydantes, elles sont incapables de générer des dommages aux cellules. Plusieurs facteurs interviennent dans l'apparition du stress oxydant :

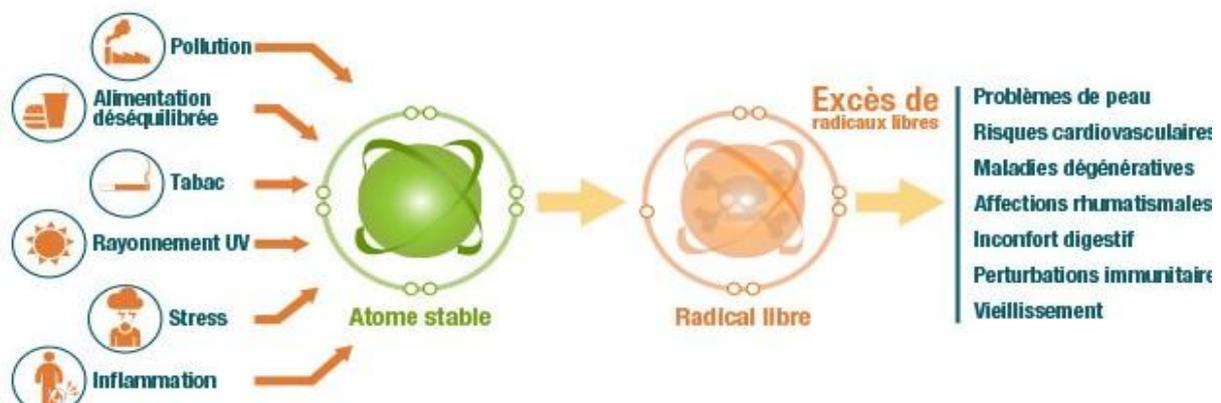
- ❖ Facteurs exogènes comme le tabagisme, l'obésité, les polluants environnementaux, l'intoxication aux métaux lourds, les xénobiotiques et les différents types d'irradiations (X, UV) ... (**fig. 7**).
- ❖ Facteurs endogènes liés aux mutations du patrimoine génétique contribuent à augmenter considérablement la production de ROS (**Foyer et Noctor, 2005 ; Pizzino et al., 2017**).

#### 4.2.2- Conséquences

Les ROS sont très réactifs et sont retenus dans les différents compartiments cellulaires des végétaux, comme les chloroplastes, les mitochondries et les peroxysomes (**Del Rio et al., 2006 ; Navrot et al., 2007**).

Les effets délétères des espèces actives de l'oxygène présentes à des doses élevées dans les cellules, conduiraient à une rupture d'équilibre RED/OX et favoriseraient l'oxydation des carbohydrates (glucides) et les macromolécules comme l'ADN. La peroxydation des lipides induit des lésions directes irréversibles des molécules biologiques des cellules ainsi qu'à la fluidité des membranes lipidiques (**Sadani et Nadkarni, 1997**).

C'est ainsi qu'à long terme on remarque de nombreuses lésions secondaires telles que la sénescence cellulaire, apparition de cancers, maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, et bien d'autres pathologies (**Figure 7**) (**Bansal et Bilaspuri, 2011**).



**Figure 7** : Facteurs et conséquences du stress oxydatif

#### 4.3- Système de défense antioxydant

Le corps humain dispose d'un vaste réseau de défense antioxydant, synthétisé par l'organisme ou le plus souvent apporté par l'alimentation. Les cellules déploient un système défensif extrêmement complexe principalement enzymatique, mais aussi non enzymatique.

##### 4.3.1- Système antioxydant enzymatique

Plusieurs enzymes assurent la réparation des éventuels dommages oxydatifs causés par les ROS :

- **Catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde, d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques (**Reynaert et al., 2007**). Elle est principalement localisée dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules dépourvues de cet organite, comme les globules rouges) (**Lindau et Shaffer, 1993**).

- **Glutathion peroxydase (GPx)**

La coenzyme sélénium est localisée dans le cytoplasme et la matrice mitochondriale. Son activité est de dégrader les peroxydes organiques (ROOH) et le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**Valko et al., 2006**).

- **Superoxyde Dismutase (SOD)**

Les superoxydes dismutases ou SOD sont des antioxydants enzymatiques présents dans la plupart des organismes eucaryotes. Ces métalloprotéines représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif en assurant l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de réduction en le convertissant en hydrogène moléculaire et en oxygène par la réaction suivante (**Haleng et al., 2007**).

#### **4.3.2- Système antioxydant non enzymatique**

En plus du système enzymatique, plusieurs compléments interviennent dans le maintien de l'équilibre oxydants/ antioxydants :

- **Glutathion**

Le glutathion est un tripeptide ubiquitaire produit dans divers tissus. Il est présent dans de nombreux compartiments intracellulaires sous une forme réduite (**Valko et al. 2006**). C'est un antioxydant puissant qui peut régénérer d'autres antioxydants, tels que la vitamine C et E (**David, 2015**). Dans le foie est produit en petite quantité et est également présent dans certains aliments (levure, bœuf, épinards, brocoli...) (**Medart., 2009**).

- **Oligoéléments**

Les oligo-éléments (zinc, sélénium, cuivre, manganèse) constituent des cofacteurs nécessaires à l'activité des enzymes antioxydantes. D'autres ingrédients de l'alimentation agissent comme antioxydants indirects en régulant l'homocystéinémie (vitamines B), en augmentant la sensibilité à l'insuline (chrome) ou en combattant l'inflammation (magnésium) (**Roussel, 2009**).

*Partie 2.*

*Etude botanique de la plante*

## II Etude botanique de la plante *Phoenix dactylifera* L.

Il existe environ 5000 variétés de fruits de palmier dattier cultivés dans différentes régions du monde (Selim et al., 2012). Le *Phoenix dactylifera* L. est l'un des plus anciens arbres et cultures fruitières au monde (Barakat et al., 2020), emblème associé au développement culturel, environnemental, religieux et social des personnes vivant dans les zones chaudes et arides, en particulier au Moyen-Orient et en Afrique (Terral et al., 2012).

### 1- Historique et origine

C'est en 1734 que Linné a donné le nom de *Phoenix dactylifera* L. à cet arbre et a fait la description morphologique complète de cette espèce. Par ailleurs, plusieurs auteurs l'ont décrit (Munier, 1973 ; Djerbi, 1994 ; Ferry, 1994 ; Peyron, 2000 ; Zaid et al., 2002).

Dans l'étymologie du mot "Phoenix" dérive le nom de Dattier chez les Grecs, qui le considéraient comme arbre des phéniciens, et "dactylifera" vient du latin "dactylus" dérivant du grec dactylis, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit. Les études menées par Aoudah-Ibrahim (2011), ont montré que "dactylis" ou "Datte" dérivée du mot "Daguel" ou "Dachel" origine hébraïque signifiant doigts.

L'origine du Palmier Dattier en Algérie, vient de la « péninsule arabique ». Il a été introduit par l'intermédiaire de commerçants autour de la Méditerranée, spécialement dans les lieux disposant d'eau dans le Sahara (Toutain, 1967).

### 2- Systématique de la plante

Le Palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* L. par Linné en 1734. Sa position systématique était donnée par Djerbi (1994) comme suit :

Groupe : **Spadiciflore**

Embranchement : **Angiosperme**

Classe : **Liliopsida (Monocotylédone)**

Ordre : **Arecale (Palmale)**

Famille : **Arecaceae (Palmacée)**

Tribu : **Phoenixea**

Genre : **Phoenix**

Espèce : ***Phoenix dactylifera* L.**



Photo 1: *Phoenix dactylifera* L.

### 3- Description et aspect général de *P. dactylifera* L.

Le dattier est un grand palmier de 15 à 30m de haut, au tronc cylindrique appelé « stipe », surmonté d'une couronne de feuilles plumeuses mesurant jusqu'à 7m de long. Les organes reproducteurs dits « spathes » sont sous forme de grappes d'épie, protégés par une bractée close ligneuse et fusiforme de couleur vert-jaunâtre, qui est formée à partir de bourgeons axillaires (**photo 1**).

La partie comestible du dattier est la dattes, de forme différente (selon les espèces). Les dattes Ajwa sont ovoïdes allongées de taille moyenne (**photo 2**). Au stade du Rutab les dattes atteignent leur poids maximum et acquièrent une couleur rouge foncé, puis au stade Tamar les dattes se rident ce qui est dû à la diminution du poids et la couleur vire au brun-noirâtre. Le noyau constitue 13 à 15% du poids total du fruit. (**Gasim, 1994 ; Boussena Zahida et al., 2016 ; Khalid et al., 2017**).



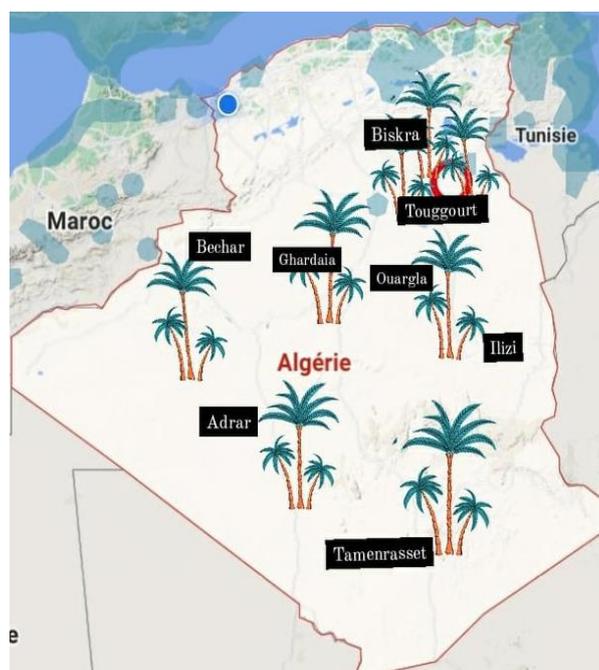
**Photo 2:** Dattes Ajwa.

### 4- Répartition géographique de *P. dactylifera* L.

Les palmiers dattiers sont largement cultivés au Moyen-Orient, en Europe du Sud, en Afrique du Nord, en Amérique du Sud, en Inde et au Pakistan (**Al-Farsi et al., 2008**).

La phœniciculture<sup>1</sup> sur le territoire national est concentrée dans les régions situées sous l'Atlas saharien, mais surtout dans le sud-est du pays (Oued Souf, Ziban, Oued Righ, Ouargla) (**Houari, 1992 ; Messar, 1996**).

Les dattes Ajwa utilisées dans notre étude proviennent de la région sub-saharienne en Algérie, dans la région de « Touggourt » à 160 km au nord d'Ouargla.



**Photo 3:** Régions de culture du palmier dattier en Algérie.

<sup>1</sup> Culture des palmiers dattiers

### Plantation et sol

La culture d'un dattier nécessite un sol humide à long terme. Certains palmiers dattiers craignent que les températures inférieures à 10°C soient atteintes.

### 5- Variétés de dattes disponibles en Algérie

**Tableau 1:** Principales variétés de dattes algériennes et leur aire de culture. (Dubost,1991).

Variétés	Consistance	Aire de culture
Deglet-Nour	Demi molle (T)	Bas Sahara Mzab
Ghars	Molle (P)	Bas Sahara Mzab
Hmira	Demi molle (N)	Touat Saoura
Mech Degla	Sèche (T)	Ziban
Tante boucht	Molle (P)	Ouargla Mzab
Tataouine	Demi molle (P)	Ouargla Mzab
Bent Keballah	Molle (P)	Ouargla Mzab
Tadala	Molle (N)	Mzab et Laghouat
Timjouhert	Demi molle (N)	Mzab Gourara
Degla-Beïda	Sèche (P)	Oued Righ
Tegaza	Demi molle (N)	Tidikelt
Tazerzait	Demi molle (N)	Sud-ouest
Ouarglia	Demi molle (N)	Sud-ouest
Tim-nacer	Sèche (N)	Sud-ouest
Taker-boucht	Demi molle (T)	Touat, Gourara
Aghrs	Sèche (T)	Touat
Mejdool ou Mejhoul	Sèche (P)	Biskra
Ajwa	Demi molle (T)	Biskra / Ouargla

- P : Précoce (Période de récolte en fin Août).
- N : Normale (Période de récolte en Septembre).
- T : Tardive (Période de récolte en Novembre).

### 6- Composition chimique de *P. dactylifera* Ajwa

Contrairement à ce qu'on pourrait croire, les noyaux de dattes Ajwa ont une valeur nutritive plus élevée que la chair. Les noyaux sont une excellente source de fibres alimentaires totales (TDF), solubles (SDF) et insolubles (IDF), de sucre, de divers minéraux plus particulièrement le fer, de lipides, sont hautement riches en polyphénols, en flavonoïdes, ce qui leur confère des propriétés antioxydantes et anti-radicalaires, qui aident à protéger le corps contre les dommages dus au stress oxydatif, à lutter contre l'hépatotoxicité et contre le cancer humain (Habib et al., 2014 ; Assirey, 2015 ; Boussena, 2016 ; Khalid et al., 2016 ; Djaoudene et al., 2019).

### 7- Transformations technologiques issues des palmiers dattiers

Dans l'industrie de transformation, il existe d'innombrables produits à base de dattes décrits par (Munier, 1973 ; Estanove, 1990 ; Mahjoub et Jraidi, 1992) :

Les dattes de qualité inférieure trouvent leurs places dans l'industrie alimentaire sous diverses formes : farine, pâte, huile, sirop, miel, confiture. Elles sont utilisées généralement dans la consommation directe ou dans la fabrication pâtissière, biscuitière, ou comme édulcorant de boissons gazeuses, et crèmes glacées.

D'un autre côté la sève du palmier dattier est une boisson très appréciée chez les paysans, connue sous le nom de Legmi ou vin de palme, c'est une boisson blanchâtre et pétillante au goût sucré-acidulé rafraîchissant, plus au moins fermentée, consommée en dehors des repas, le vin de palme joue un rôle important dans la nutrition de la population locale (Béhi et al., 2002).

Le chou palmiste ou cœur de palmier est la partie centrale du stipe comportant le méristème apical, c'est un aliment au goût doux, consommé comme légume dans les salades, soupes, et autres. (Galetti et Fernandez, 1998).

Les feuilles et le bois du tronc du palmier sont utilisés dans l'industrie du bois pour la confection de meubles, toitures...

### 8- Utilisation traditionnelle de la plante

- L'utilisation la plus courante de dattes est de rompre le jeûne de la journée pendant le mois sacré du Ramadan (Al-Shahib et al., 2003).
- Un autre rôle important montre un effet significatif sur la dilatation du col utérin.
- Elle aide à enrichir le lait maternel avec de nombreux nutriments efficaces, elles sont nutritives et peuvent être incluses dans le régime alimentaire du nourrisson, pour stimuler son développement sain (Al-Farsi, et al., 2008).
- Benskrane et al. (2014), se sont intéressés aux préparations pharmaceutiques à base de poudre de noyau de dattes Ajwa sous forme d'infusion, et à leurs effets recommandés dans le traitement de la lithiase urinaire pour leur fort pouvoir diurétique.
- Les noyaux d'Ajwa sont riches en fibres diététiques, cette richesse représente une caractéristique très recherchée dans la fabrication du pain avec un taux de 10%, la poudre peut remplacer les autres sources de fibres non céréalières (Al-Qarawi et al., 2005 ; Jassim et al., 2007).

- Ces noyaux peuvent être utilisés dans l'alimentation humaine, après torréfaction, ils peuvent être considérés comme succédané du café et donnent une décoction d'une saveur et d'un arôme agréable (café décaféiné) (**Aldhaheri et al., 2004**).
- Ils sont additionnés à l'alimentation du bétail pour augmenter leur taux de croissance, car ils contribuent à l'augmentation des œstrogènes et/ou testostérone dans le plasma (**Jassim et Naji, 2007**).
- La poudre de noyau de datte est à la base de la fameuse poudre de « Kohl ». Ce crayon noir très efficace pour traiter les infections oculaires, et faire pousser les cils.

### 9- Travaux précédents :

Plusieurs travaux ont été réalisés sur la poudre de noyaux Ajwa. Parmi ces travaux on cite :

L'étude des effets de la poudre de graine de datte Ajwa sur le taux des lipides sériques et la prévention contre l'apparition des maladies cardiovasculaires. Les résultats obtenus sont très prometteurs, 78% de diminution du taux de cholestérol total : cette poudre peut être utilisée comme traitement des hypercholestérolémies (**Jubayer et al., 2020**).

D'un autre côté **Sarfraz et al, (2017)**, ont étudié les effets de l'extrait aqueux de poivre noir et de graine d'Ajwa sur les enzymes hépatiques chez les rats albinos Wister diabétiques induits par l'alloxane. L'extrait des graines d'Ajwa et le mélange d'extrait de poivre noir et de graines d'Ajwa ont diminué significativement le taux de glycémie après 8 semaines de traitement chez les rats diabétiques.

Une autre étude menée pour l'évaluation des propriétés antioxydantes et profilages phénoliques par UPLC-QTOF-ES des cultivars de palmier dattier Ajwa, Safawy et Sukkari, les trois extraits de dattes présentent une forte activité antioxydante due à la forte teneur en composés phénoliques. (**Zihad et al., 2021**).

## *Matériel et méthodes*

### III Partie expérimentale

#### 1- Matériel végétal

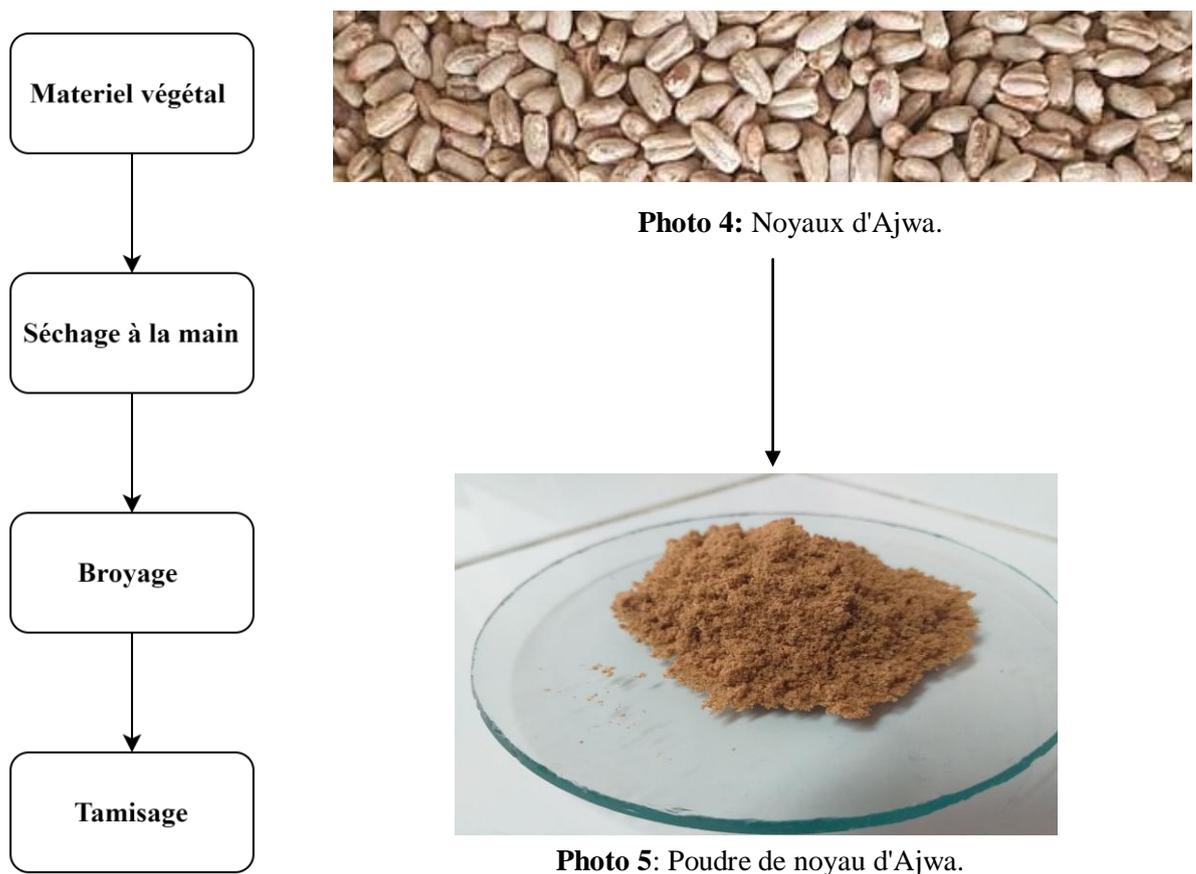
##### 1.1- Choix et récolte des dattes

Les dattes sont un fruit très consommé en Algérie surtout en période de jeûne. On s'est axé sur les dattes Ajwa dans cette étude, car ce palmier dattier a été récemment introduit dans le territoire Algérien, venant des terres saintes de la Mecque. Cueilli en mois d'octobre à Touggourt et acheté à l'état frais au commerce.

Les noyaux de dattes sont une partie du fruit qu'on jette souvent, négligeant totalement leurs effets bénéfiques sur la santé. Notre recherche s'est basée sur ce principe, afin de démontrer les richesses de ces noyaux en composés antioxydants.

##### 1.2- Préparation du matériel

Les noyaux utilisés proviennent de dattes Ajwa fraîches, décortiquées à la main. Ils sont nettoyés et séchés, puis réduits en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre est tamisée afin d'éliminer les gros morceaux (**fig. 8**).



**Figure 8:** Etapes de la préparation de la poudre de noyaux de dattes Ajwa

**NB** : 1kg 500 de dattes est nécessaire pour une quantité de 100g de poudre de noyaux,

### 1.3- Extraction et préparation de l'extrait

La quantité de 20g de poudre d'Ajwa a été insérée dans une cartouche en cellulose, puis dans un siphon à Soxhlet, dans un ballon contenant 450mL d'hexane chauffé à 45°C pendant 2 heures, le mélange d'extraction obtenu est passé dans un évaporateur rotatif à 60°C pendant 2h30, afin d'éliminer le solvant, et concentrer la matière. Le produit résultant de cette extraction est une huile fixe. Le rendement en huile est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = [P1 - P2 / P3] \times 100$$

P1 : poids ballon après évaporation

P2 : poids ballon vide

P3 : poids initial de la matière végétale

Une deuxième extraction par Soxhlet est réalisée sur le marc de la poudre, avec 450mL d'un mélange de méthanol, éthanol, et acétone (v/v/v), pendant 2h30. L'extrait alcoolique est également passé dans l'évaporateur rotatif, pour le séchage complet du solvant, le rendement en matière sèche est calculé avec la formule précédente.

**NB** : l'utilisation du mélange des trois solvants (acétone, méthanol et éthanol) permet une extraction maximale des composés phénoliques selon (**De Albuquerque et al., 2019**).

Les 2g de la matière sèche obtenue après l'évaporation des solvants sont dissous dans 100ml de méthanol, pour la réalisation des différentes manipulations de cette étude.

## 2- Protocoles expérimentaux et quantification de certains composés phénoliques dans l'extrait

### 2.1- Dosage des polyphénols totaux

Le réactif utilisé, « Folin-Ciocalteu », est un mélange de complexes d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 750 nm. Ce dosage est réalisé par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue. Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermerris et al. (2006)** :

Une prise de 100  $\mu$ L de l'extrait est mélangée avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5 min, 100  $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont additionnés au mélange, le tout est laissé à température ambiante pendant 30 min et la lecture est réalisée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm.

Une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500  $\mu$ g/mL. Les teneurs en Polyphénols totaux des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mgEAG/g ES).

**Tableau 2:** Protocole de dosage des polyphénols totaux.

						EXTRAIT		
Tubes	Blanc	1	2	3	4	1000	500	250
[ A.gallique] (µg/ml)	0	62,5	125	250	500			
Volume A.gallique	0	100	100	100	100	/	/	/
V Extrait	/	/	/	/	/	100	100	100
V Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
INCUBATION 5MIN A L'OBSCURITE								
V Folin 1N (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.4
INCUBATION 30 MIN A L'OBSCURITE puis lecture a 750nm.								

### 2.2- Dosage des flavonoïdes totaux

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et le nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>). Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. La comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes. La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par **Dewanto et al. (2002)** :

Une prise de 250 µL d'extrait diluée est ajoutée à 75 µL d'une solution de NaNO<sub>2</sub> à 5%. Après incubation pendant 6 min à température ambiante, 150 µL d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>, 10%) est ajoutée au mélange. Après repos à température ambiante pendant 5 min, 500 µL de soude (NaOH, 1M) est ajouté au mélange. Le volume final est ajusté à 2,5 mL avec de l'eau distillée. L'absorbance de cette préparation est mesurée contre un blanc à 510 nm.

Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500 µg/mL. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

**Tableau 3:** Protocole de dosage des flavonoïdes.

Tubes	blanc	1	2	3	4	EXTRAIT 1mg/ml
[Catechine] (µg/ml)	0	62,5	125	250	500	/
V catéchine (µl)	250	250	250	250	250	/
V Extrait (µl)	/	/	/	/	/	250
V ED (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
V NaNO <sub>2</sub> 15% (µl)	75	75	75	75	75	75
INCUBATION 6 MIN A TEMPERATURE AMBIANTE						
V AlCl <sub>3</sub> 10% (µl)	75	75	75	75	75	75
INCUBATION 6 MIN A TEMPERATURE AMBIANTE						
V NaOH 4% (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
EAU DISTILLEE (µl)	2500	2500	2500	2500	2500	2500
INCUBATION 15 MIN A L'OBSCURITE puis lecture a 510nm.						

### 2.3- Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés en présence d'acide chlorhydrique se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm. Une prise de 50 µL d'extrait est ajoutée à 1,5 mL de vanilline à 4% et 0,75 mL du chlorure d'hydrogène (HCL) concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation pendant 15 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée contre un blanc à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés, déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine (0 à 500 µg/mL), sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/ g ES) (Sun et al., 1998).

**Tableau 4:** Protocole de dosage des tanins.

Tubes	Blanc	1	2	3	4	EXTRAIT 1000 (µg/mL)
[Catéchine] (µmL)	0	62,5	125	250	500	/
Volume catéchine (µL)	0	50	50	50	50	/
V Vanilline 4% (µL)	1500	1500	1500	1500	1500	1500
V HCl (µL)	750	750	750	750	750	750
INCUBATION 15 MIN A TEMPERATURE AMBIANTE puis lecture a 500nm.						

### 3- Evaluation des activités biologiques, *in vitro*

#### 3.1- Détermination de l'activité antioxydante

##### 3.1.1- La capacité antioxydante totale (CAT)

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte. Une prise de 100 µL d'extrait est combinée dans un tube avec 1 mL de solution composée d'acide sulfurique (0,6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après un repos de 6 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait. Comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) (Prieto et al.,1999).

##### 3.1.2- Le piégeage du radical DPPH

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 515 à 520 nm. La méthode de DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

A différentes concentrations allant de 50 à 175 µL/mg, 50 µL de chaque échantillon, sont ajoutés à 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH à  $6,34 \times 10^{-5}$  M (0,0025 g dans 100 mL méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µL du méthanol avec 1950 µL d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, la réduction de DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le témoin positif utilisé est le butylhydroxyanisol (BHA). Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition qui est calculé suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, à l'aide de la formule suivante :

$$PI = (D. O \text{ témoin} - D. O \text{ extrait} / D. O \text{ témoin}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

D.O témoin : absorbance du témoin négatif.

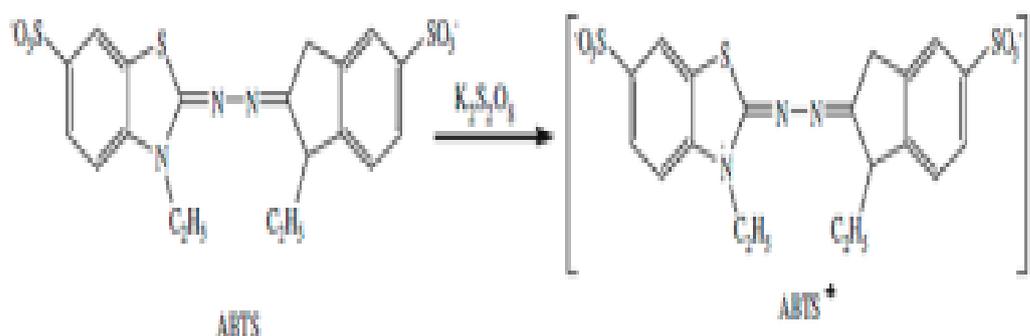
D.O extrait : absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI<sub>50</sub>). Une valeur faible de CI<sub>50</sub> correspond à une grande efficacité de l'extrait.

### 3.1.3- Piégeages du radical ABTS<sup>•+</sup>

Le radical ABTS<sup>•+</sup> préformé est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec persulfate de potassium (**fig. 07**) (**Re et al., 1999**). Cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleu intense. En présence d'un donneur d'hydrogène (agent antioxydant), le passage du radical ABTS<sup>•+</sup> à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparation de cette coloration mesurée à une longueur d'onde de 734 nm.

Le radical ABTS<sup>•+</sup> est le produit par réaction entre une solution aqueuse d'ABTS<sup>•+</sup> (14 mM) et une solution de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 4,9mM), utilisé comme oxydant. Ce mélange est agité pendant 16h à l'obscurité puis dilué par l'éthanol jusqu'à obtenir une absorbance à 734 nm de 0.700 ± 0.02. Une prise (950 µl) de cette solution ABTS<sup>•+</sup> est ensuite mélangée à 50 µl d'extrait à différentes concentrations allant de 50 à 175 µL/mg. Après 6 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm contre un blanc (témoin négatif) et comparée à celle de l'antioxydant de synthèse : Trolox (L'acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique) (**Re et al.,1999**).



**Figure 9:** Génération du radical ABTS par un oxydant.

### 3.1.1- Le pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer. Le ferricyanure de potassium  $K_3 Fe (CN)_6$  fournit des ions  $Fe^{3+}$  qui seront réduits en  $Fe^{2+}$  par les antioxydants présents dans l'extrait végétal. Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)** :

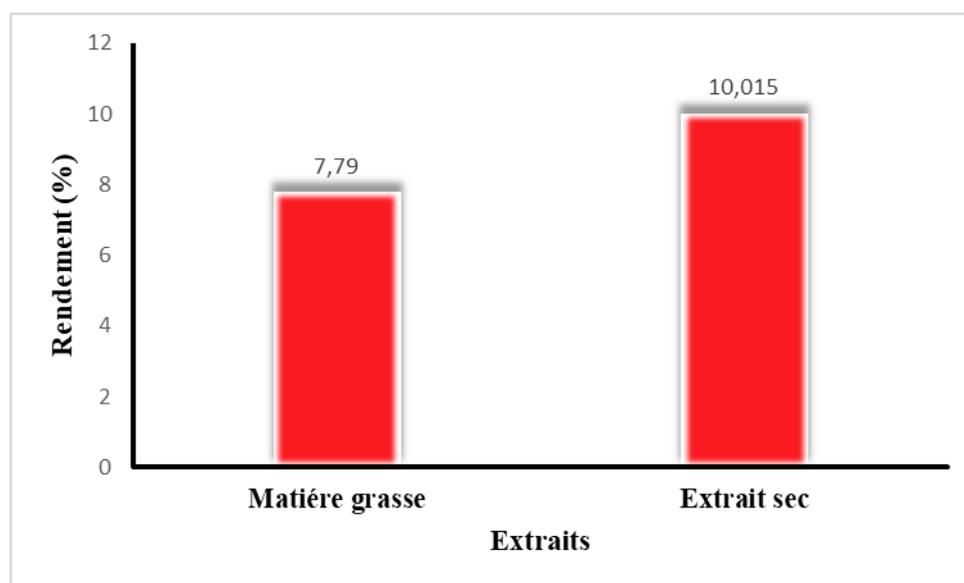
Cette méthode consiste à mélanger 1 mL de l'extrait à différentes concentrations (12,5 à 500  $\mu$ L/mg) avec 2,5 mL de tampon phosphate 2,2 M à pH 6,6 et 2,5 mL d'une solution de  $K_3 Fe (CN)_6$  à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 20 min à 50°C, puis 2,5 mL d'acide trichloracétique à 10% (m/v) sont ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange est centrifugé à 650 g pendant 10 min à température ambiante et 2,5 mL du surnageant sont additionnés de 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de  $FeCl_3$  à 0,1% (m/v). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm contre un blanc. Les résultats permettent de calculer la concentration efficace ( $CE_{50}$ ) concentration de l'extrait correspondante à une absorbance égale à 0,5, obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire ( $D.O = f ([I])$ ). L'activité de l'extrait est enfin comparée à celle du témoin positif, le butylhydroxyanisole (BHA).

## *Résultats et discussions*

### IV Interprétation

#### 1- Rendement des deux extractions par Soxhlet

Après dégraissage par l'hexane, le marc utilisé initialement est réutilisé une seconde fois pour l'extraction par un mélange de volume équivalent de méthanol, acétone et l'éthanol. Ces extractions ont permis d'obtenir après évaporation à sec et sous pression deux extraits, l'un d'aspect huileux translucide, le second d'aspect pâteux de couleur brunâtre. Le rendement en matière est présenté dans le graphique suivant (fig. 10) :



**Figure 10:** Rendement des deux extractions par Soxhlet.

Les noyaux de dattes contiennent un taux de matière sèche élevée, ce qui explique la consistance très dure de ces derniers. Les noyaux d'Ajwa analysés contiennent un taux de 7,79% de matière grasse (MG) ce qui représente un pourcentage assez proche de celui évalué par **Boudechiche et al. (2009)** sur les 20 différentes variétés de noyaux de dattes, dont ce taux varie de 5,13% à 7,12%.

Toutefois, la matière sèche obtenue à 10,015% paraît incomparable avec le taux de matière sèche (MS) extraite à partir des différents cultivars étudiés par **Boudechiche et al. (2009)**, varie entre 81% et 93%. Les taux de MS et MG varient d'une plante à une autre, mais aussi de solvants d'extraction. La différence entre les résultats obtenus est probablement due à la réalisation de deux extractions successives sur un même matériel végétal.

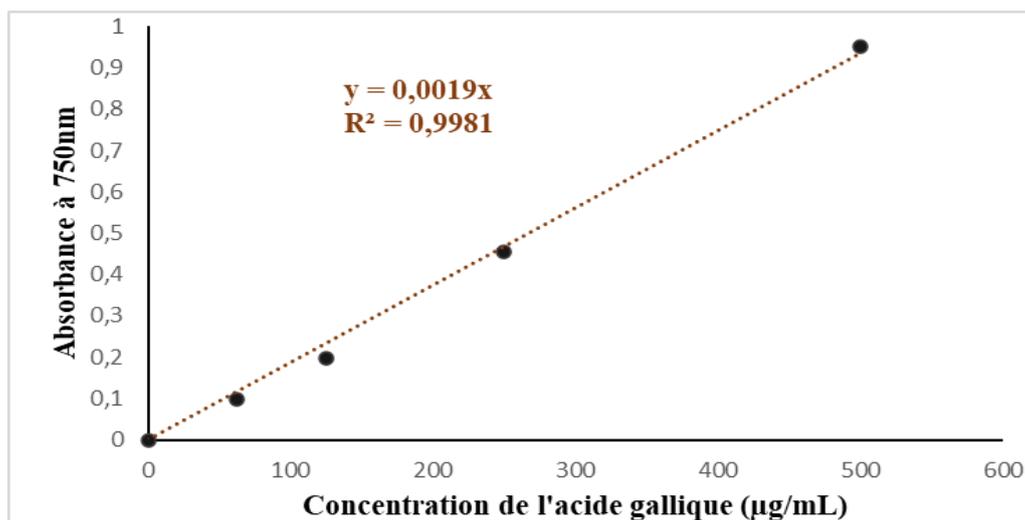
#### 2- Evaluation de la teneur en composés phénoliques

L'évaluation quantitative des teneurs en composés phénoliques de l'extrait sec a été déterminée par des méthodes spectrophotométriques UV-visible. Les résultats obtenus pour les dosages des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES), et en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES), respectivement.

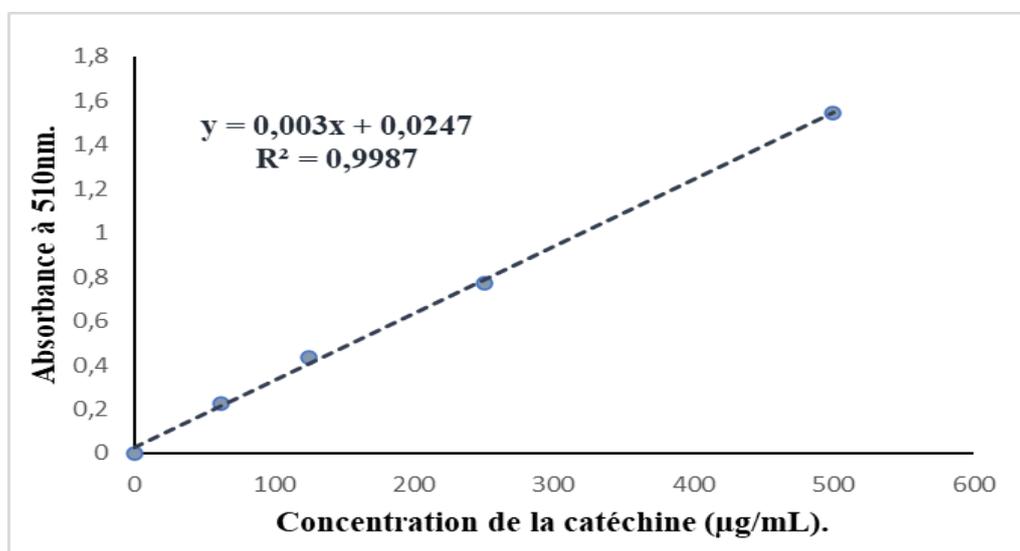
### 2.1- Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par la méthode du Folin-Ciocalteu, avec une courbe d'étalonnage d'acide gallique comme témoin (**fig. 11**).

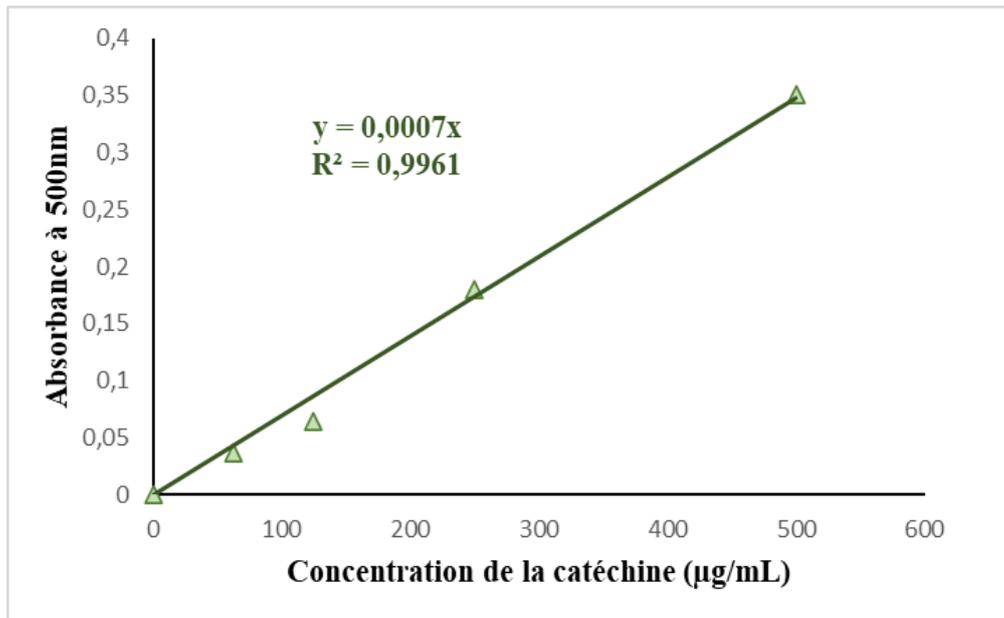
La quantification des flavonoïdes et des tanins condensés est réalisée par la méthode du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ , et de vanilline HCl ainsi qu'une courbe d'étalonnage avec la catéchine en témoin pour les deux composés (**fig. 12 et 13**).



**Figure 11:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.



**Figure 12:** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.



**Figure 13:** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

Les résultats du dosage quantitatif des composés phénoliques de l'extrait sec de la poudre de noyau d'Ajwa sont représentés dans le tableau ci-dessous (**tableau 5**) :

**Tableau 5:** Teneurs en composés phénoliques dans l'extrait sec de la poudre de datte Ajwa.

Composés phénoliques	<b>Polyphénols totaux (TPT)</b> (mg EAG/ g ES)	<b>Flavonoïdes (TF)</b> (mg EC/ g ES)	<b>Tanins condensés (TTC)</b> (mg EC/ g ES)
Teneurs	3,645	2,558	3,605

EAG : équivalent d'acide gallique.

EC : équivalent de catéchine.

ES : extrait sec.

TPT : teneur en polyphénols totaux TF : teneur en flavonoïdes TTC : teneur en tanins condensés.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique évaluée par **Arshad et al. (2015)** est égale à 0,074 mg EAG/g ES, ce résultat est inférieur au notre qui est de 3,645 mg EAG/g ES. D'un autre côté, les mêmes auteurs ont obtenu dans l'extrait aqueux un taux de 576,14 mg d'équivalent de rutine par gramme d'extrait sec, ce résultat dépasse largement le notre qui est de 2,558 mg EC/g ES.

**Batool et al. (2020)** ont évalué les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes dans la chair des dattes Ajwa sont 2,806 mg/g d'extrait sec ; 1,720 mg/g d'extrait sec respectivement, ces résultats restent inférieurs à ceux du noyau. Les tanins sont fortement impliqués dans l'amertume et l'astringence des fruits et des graines, cela assure la protection les éventuelles attaques pathogènes (**Hammouda et al., 2014**). Les teneurs en tanins condensés 26,81 mg

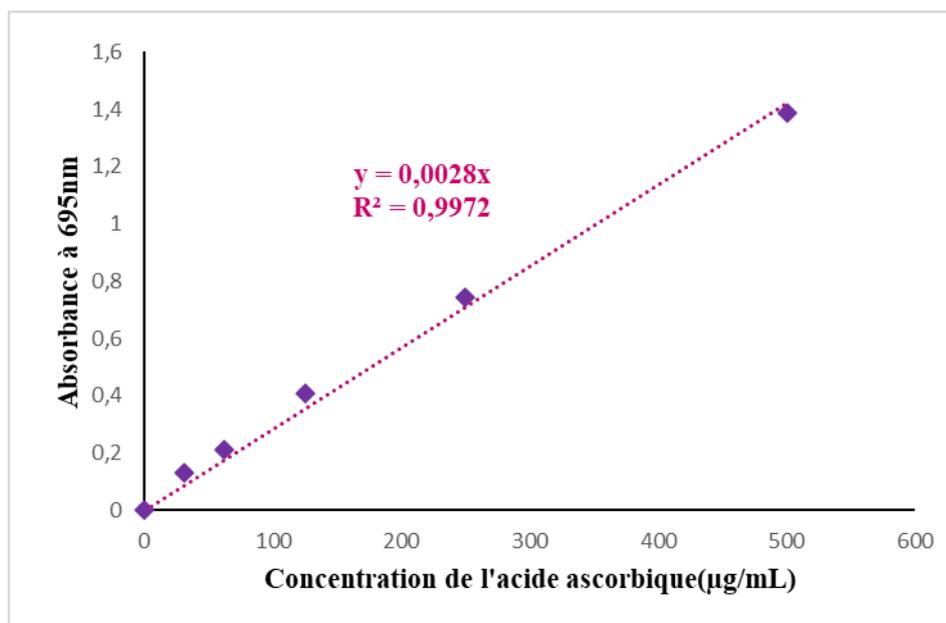
EC/g Extrait et de 20,13 mg EC/g Extrait dans les noyaux des deux cultivars arechti et korkobbi de Tunisie respectivement sont significativement supérieure à la nôtre qui est de 3,605 mg EC/g ES. La teneur en tanins dans la chair des dattes Ajwa a donné un taux de 5 mg/ g d'extrait, cette valeur reste aussi supérieure au notre, cet écart de résultats est probablement dû aux plusieurs paramètres, à savoir les méthodes de dosages. Les différentes parties du fruit, stade de maturation, degré d'hydrations. D'un autre côté, la nature du solvant utilisé est très déterminante, le contenu phénolique est généralement plus élevé dans les extraits aqueux que les extraits alcooliques, probablement à cause de la polarité de l'eau (Hamad, et al., 2015 ; Saleh, Tawfik, et Abu-Tarboush, 2011).

### 3- Evaluation de la capacité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait sec des noyaux d'Ajwa a été déterminée *in vitro* par les méthodes de DPPH, FRAP, ABTS et CAT.

#### 3.1- Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante de l'extrait méthanolique est exprimée en milligrammes équivalents acide ascorbique par gramme d'extrait sec (mg EAA/g ES). En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique comme référence (fig. 14).



**Figure 14:** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de l'activité antioxydante totale.

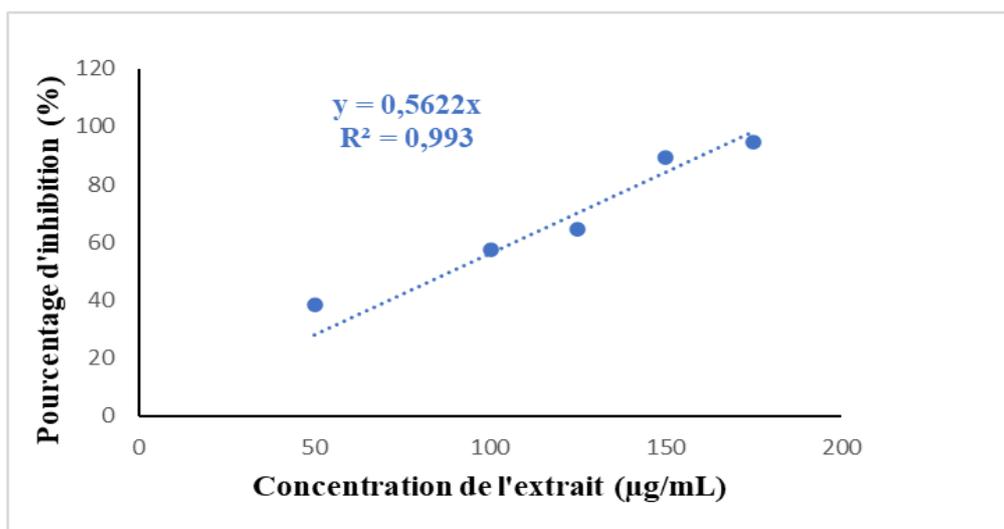
La capacité antioxydante totale de l'extrait sec du noyau d'Ajwa algérienne est estimée à 4,835 mg EAA/g ES. Ce résultat reste nettement supérieur à ce évalué par Arshad et al. (2015) d'El Madinah sur les différentes fractions méthanolique, acétonique et butanolique, 0,032 mg EAA/mL ; 0,029 mg EAA/mL ; 0,021 mg EAA/mL d'extrait respectivement.

Cette variation de résultats entre les travaux effectués pourrait être due à la quantité et /ou à la nature des substances antioxydantes présentes dans l'extrait. Il est difficile d'expliquer la relation existante entre les antioxydants et l'activité antioxydante d'un végétal en se basant

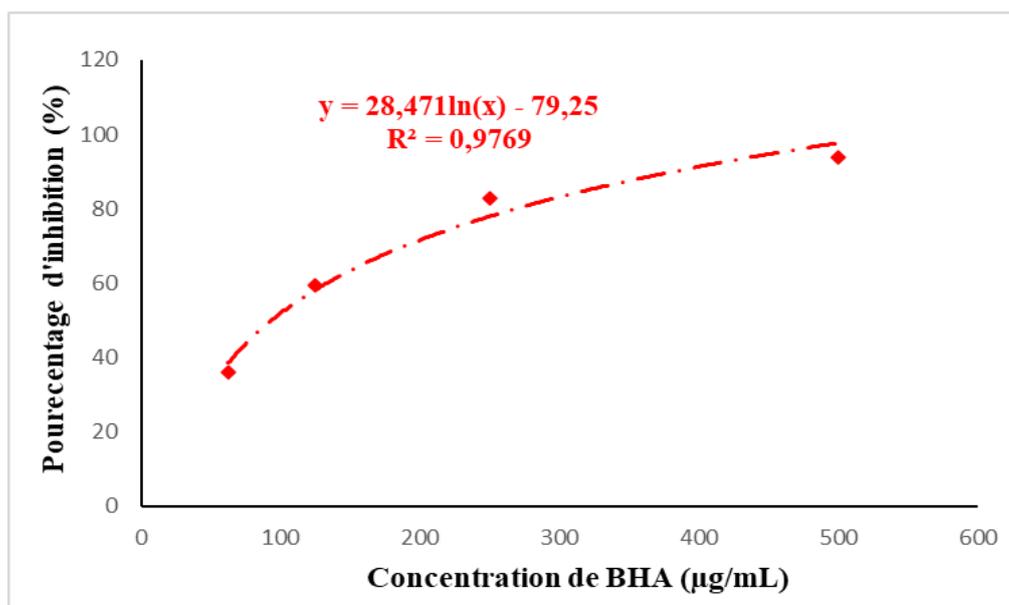
sur la seule analyse quantitative, du fait qu'il existe une relation non seulement avec le taux d'antioxydants mais aussi de l'interaction entre eux et avec d'autres constituants (Yoo et al., 2008).

### 3.2- Piégeage du radical DPPH

La gamme de concentrations utilisée est de 50 à 175  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Les valeurs des D.O obtenues sont inversement proportionnelles avec les concentrations de l'extrait. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait (fig. 15) et de l'antioxydant de synthèse (BHA) (fig. 16).



**Figure 15:** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations de l'extrait.



**Figure 16:** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations du BHA.

Les résultats des concentrations inhibitrices à 50% de l'extrait et de l'antioxydant de synthèse BHA sont présentés dans le tableau suivant :

	CI <sub>50</sub> (µg/mL)
<b>Extrait</b>	0,011
<b>BHA</b>	0,357

A une concentration de 125 µg/mL l'antioxydant de synthèse à un potentiel de piégeage du radical DPPH est 59,50%, l'extrait sec de la poudre de noyaux d'Ajwa a donné 64,70% d'inhibition à la même concentration.

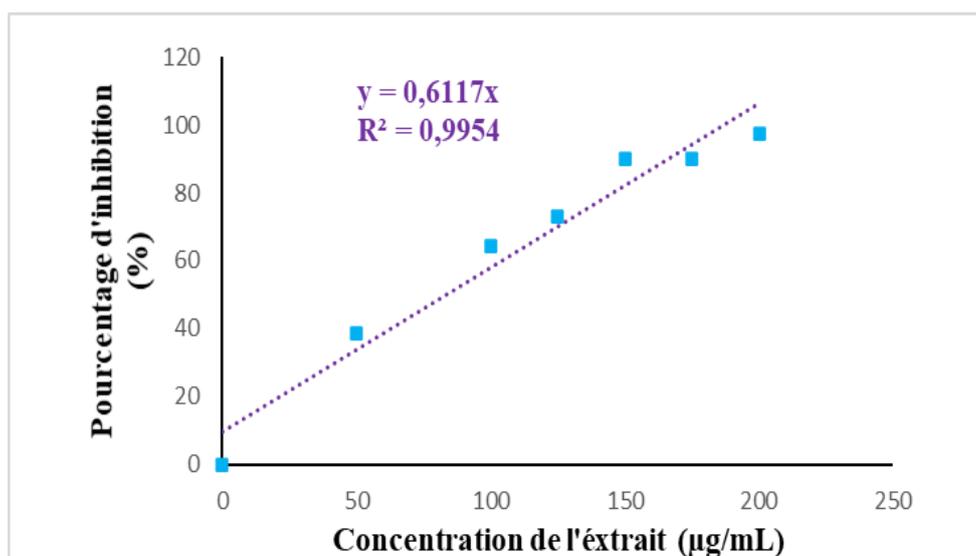
La CI<sub>50</sub> de l'extrait égale à 0,011 µg/mL est nettement plus importante à celle du BHA (0,357µg/mL) ce qui signifie que la poudre d'Ajwa a un fort potentiel de piégeage du radical DPPH.

Cependant, les résultats de **Arshad et al. (2015)** où les CI<sub>50</sub> des différents extraits de noyaux d'Ajwa—aqueux, acétonique et méthanolique sont égales à 599 mg/mL, 520 mg/mL et 410 mg/mL respectivement, par conséquent le potentiel de neutralisation du radical DPPH de notre extrait de noyaux d'Ajwa d'Algérie est meilleur que les 3 extraits de noyaux d'El Madinah, cette différence est probablement dû aux solvants utilisés dans la préparation des extraits.

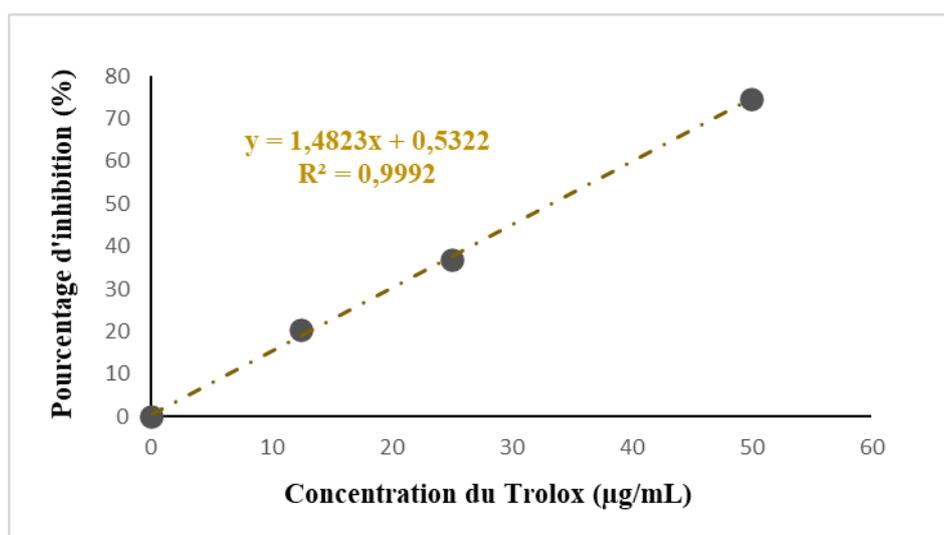
Contrairement aux résultats du piégeage du radical DPPH par les noyaux de Deglet-Nour, la CI<sub>50</sub> évaluée par **Baffi et al. (2020)** a atteint le seuil de 1012,60 µg/mL, les noyaux de datte Ajwa procèdent un meilleur potentiel à céder des protons pour neutraliser les radicaux DPPH.

### 3.1- Piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup>

Le radical ABTS est un autre antioxydant de synthèse, plus réactif que le DPPH, utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante de produits naturels. La gamme de concentrations de l'extrait est comprise entre 50 et 150 µg/mL. Pour le standard Trolox, les concentrations sont de 12,5 à 50 µg/mL. Les D.O obtenues lors des dosages ont permis de tracer des courbes d'allure linéaire, des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait (**Fig. 19**) et de Trolox (**Fig. 20**) :



**Figure 17:** Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des différentes concentrations de l'extrait.



**Figure 18:** Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des différentes concentrations du Trolox.

A une concentration de 50 µg/mL l'extrait de noyaux d'Ajwa présente un pourcentage d'inhibition équivalent à 38,49% contrairement au Trolox où le pourcentage d'inhibition à la même concentration a donné 74,74%. Les résultats des concentrations inhibitrices à 50% sont présentés dans le tableau suivant (**Tab. 8**) :

**Tableau 6:** Concentrations inhibitrices à 50% de l'extrait et du Trolox.

	Extrait	Trolox
CE <sub>50</sub> (µg/mL)	81,739	33,37

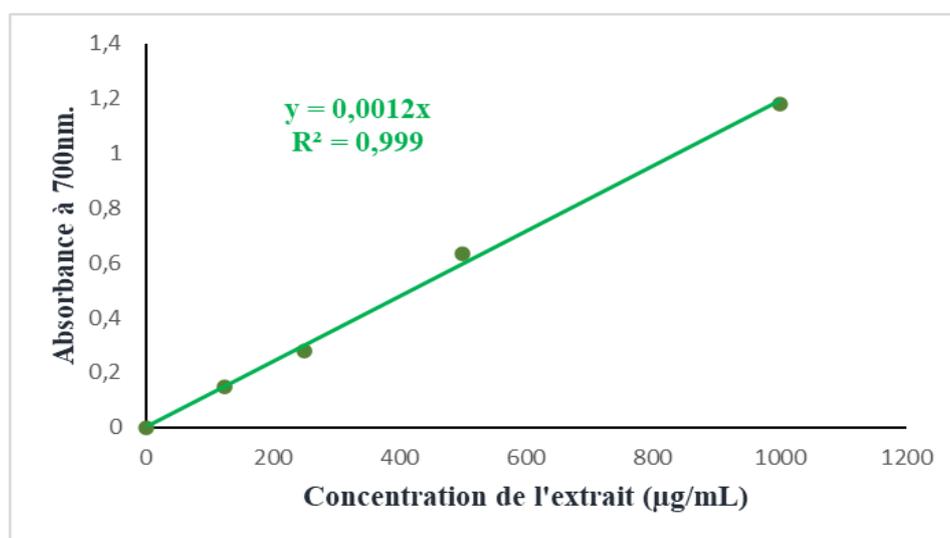
D'après les résultats des CE<sub>50</sub>, on remarque que l'extrait de noyau d'Ajwa présente un faible pouvoir de neutralisation des radicaux ABTS contrairement au Trolox qui affiche une bonne neutralisation de ces derniers.

Toutefois, nos résultats ne concordent pas avec les résultats émis par **Khalid et al. (2017a)** qui ont obtenu le meilleur potentiel de réduction du radical ABTS dans les noyaux d'Ajwa, les pourcentages d'inhibition ont varié de 69,3 % à 86,2 %.

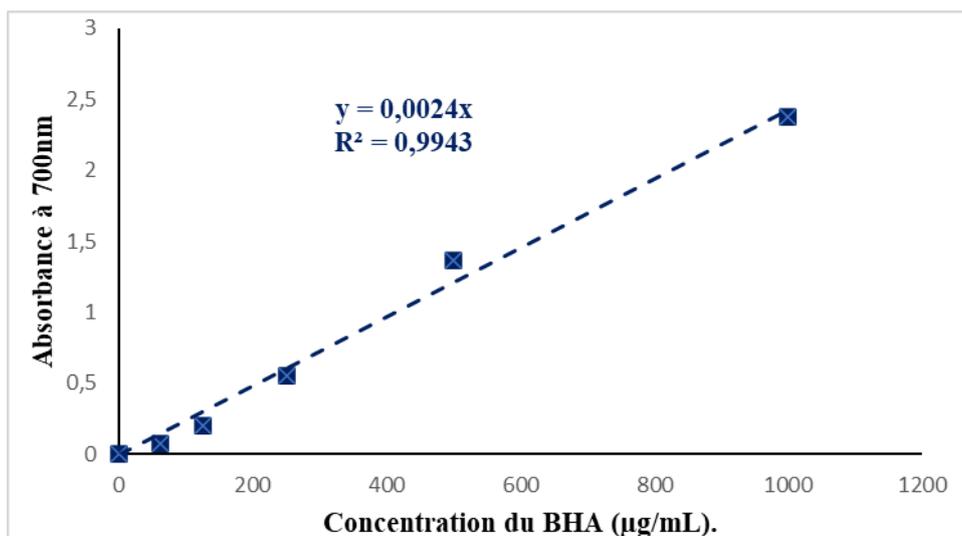
La différence entre les résultats des deux méthodes de piégeage par rapport aux études antérieures est certainement dû aux facteurs géographiques et origine de la matière végétales, des solvants utilisés et des techniques d'extraction.

### 3.2- Pouvoir réducteur du fer

Nous avons mesuré par cette méthode, le pouvoir réducteur du fer pour l'extrait de noyaux et pour le BHA comme antioxydant de synthèse. Les résultats obtenus ont permis de tracer les courbes suivantes (**Fig. 17 et 18**, respectivement).



**Figure 19 :** Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'extrait.



**Figure 20:** Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations du BHA.

Les D.O obtenues lors des dosages de l'extrait varient entre 0,093 et 1,17. L'antioxydant synthétique BHA à une concentration de 1mg/mL a montré une capacité significative de réduction du fer (D.O = 2,37). Le tableau suivant résume les CE<sub>50</sub> obtenues par calcul à partir des équations des courbes de régressions :

Extraits	Notre extrait	BHA
CE <sub>50</sub> (mg/mL)	<b>0.416</b>	<b>0.208</b>

Le pouvoir réducteur du fer de l'extrait de noyaux d'Ajwa évalué par **Shuib, (2020)** a donné une concentration efficace à 0,521 mg/mL d'échantillon. Ce résultat s'accorde bien avec le notre cependant avec une légère différence néanmoins notre résultat se révèle être meilleur. Mais pas que, notre CE<sub>50</sub> reste légèrement inférieure à la CE<sub>50</sub> des noyaux de Deglet-Nour de **Baffi et al. (2020)** qui est équivalente à 306,852 mg/mL.

Selon **Arshad et al. (2015)** l'évaluation du pouvoir réducteur des produits naturels est très influencée par le pH, le changement dans le pH conduit soit à compléter l'activité réductrice qui se traduit par une couleur rose clair, soit à inhiber la réduction du fer avec une couleur rouge foncé.

*Conclusion et perspectives*

L'Algérie est un pays phœnicole classé en 6ème position mondialement, cette culture bien qu' ancestrale ne cesse de s'accroître au cours des dernières décennies. Les dattes sont un fruit très apprécié de la population locale, connue pour son goût très sucré et mielleux, mais aussi pour ces diverses propriétés médicinales. L'objectif principal de notre étude est de mettre en évidence l'importance du noyau de datte de la nouvelle variété d'Ajwa cultivée dans la région subsaharienne de l'Est algérien.

L'extraction par Soxhlet a permis d'éliminer la matière grasse avec l'hexane en premier lieu, le mélange d'acétone, de méthanol et d'éthanol à des volumes équivalents à optimiser l'extraction des composés phénolique. L'analyse par spectrophotométrie des polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés par les méthodes du Folin-Ciocalteu, trichlorure d'aluminium et vanilline HCl respectivement, ont donné 3,645 mg EAG/g ES ; 2,558 mg EC/g ES ; 3,605mg EC/g ES respectivement. On a conclu donc que la composition phytochimique des noyaux de datte est fortement liée au stade de maturation des dattes elles-mêmes, aux variétés, mais aussi dépend de la polarité des solvants utilisés et aux méthodes d'extractions adoptées.

L'évaluation de l'effet de l'extrait de noyaux d'Ajwa contre le stress oxydant est un objectif principal dans notre étude, raison pour laquelle il était indispensable de l'étudier *in vitro*. Pour cela les différents tests CAT, DPPH, FRAP, ABTS ont permis de quantifier le potentiel antioxydant des noyaux de dattes Ajwa.

L'activité antiradicalaire contre le DPPH est très efficace et supérieure au standard BHA, dont les  $CI_{50}$  sont 0,0112  $\mu\text{g/mL}$  et 0,357  $\mu\text{g/mL}$  respectivement. Par contre, cet extrait a une capacité moindre à piéger le radical  $ABTS^{\bullet+}$  par rapport aux travaux réalisés antérieurement. Concernant l'activité réductrice de l'extrait, la  $CE_{50}$  des noyaux d'Ajwa dépasse celle de Deglet-Nour et l'Ajwa d'El Madinah.

Les perspectives de ce travail sont nombreuses, bien que ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires profondes à différents niveaux de l'approche à travers une caractérisation fine et poussée de cette plante par d'autres techniques. La performance antioxydante mise en évidence mérite d'être étudié avec plus de détails afin d'envisager des perspectives d'application de sous-produit de datte dans l'industrie agroalimentaire comme additif et dans le domaine pharmaceutique comme complément nutritif.

Les résultats de notre étude ont fait l'objet d'une participation à un séminaire national dans le cadre de la Valorisation des matières résiduelles du secteur agro-alimentaire le 26 Juin 2021.



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

Université de Tlemcen  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



**Laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition (PPABIONUT)**

**Webinaire National sur**

**« Valorisation des matières résiduelles du secteur agro-alimentaire »**

**Samedi 26 Juin 2021**

## **ATTESTATION DE COMMUNICATION**

LA PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE ATTESTE QUE LA COMMUNICATION AFFICHÉE :

**Intitulée : Valorisation des activités biologiques d'un sous-produit de datte, variété « Ajwa »**

**A été présentée par: CHAUCHE Tarik Mohammed**

**Co-auteurs: BELBACHIR N, BELAID N, AICI H, BENOSMAN R, BEKHECHI L, SENHADJI S, HADDOUCHI F.**

LA DOYENNE

**Pr Mokhtari Nassima**



LA PRÉSIDENTE DU COMITE SCIENTIFIQUE

  
**MERZOUK H**

## *Références bibliographiques*

- Ahmed, A., Arshad, M. U., Saeed, F., Ahmed, R. S., & Chatha, S. A. S. (2016). Nutritional probing and HPLC profiling of roasted date pit powder. *Pakistan Journal of Nutrition*, 15(3), 229.
- Aldhaheeri A., Alhadrami G., Aboalnaga N., Wasfi I., Elridi M. (2004). Chemical composition of date pits and reproductive hormonal status of rate fed date pits. *Food Chemistry*. 86 : 93-97.
- Al-Farsi M., Lee CY. (2008). Optimisation de l'extraction des composés phénoliques et des fibres alimentaires à partir des graines de dattes. *Chimie alimentaire*. 108 977-985.
- Al-Qarawi, AA, Abdel-Rahman, H., Ali, BH, Mousa, HM et El-Mougy, SA (2005). L'effet améliorateur des dattes (*Phoenix dactylifera* L.) sur l'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez le rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 98 (3), 313-317.
- Al-Shahib W., Marshall RJ. (2003). Le fruit du palmier dattier : il est possible de l'utiliser comme meilleur aliment pour l'avenir. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 54 247-259.
- Amal Z. Barakat, Ahmed R. Hamed, Roqaya I. Bassuiny, Azza M. Abdel-Aty et Saleh A. M .2020. Propriétés fonctionnelles des graines de palmier dattier et de palmier nain : activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. *Journal de mesure et de caractérisation des aliments*. 14 : 1064-1072.
- Arshad, F. K., Haroon, R., Jelani, S., & Masood, H. B. (2015). A relative in vitro evaluation of antioxidant potential profile of extracts from pits of *Phoenix dactylifera* L. (Ajwa and Zahedi dates). *International Journal of Advanced Information Science and Technology*, 35(35), 28-37.
- Assirey EA. (2015). Composition nutritionnelle des fruits de 10 cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) cultivés en Arabie Saoudite. *Journal of Taibah University for Science*. 9: 75-79
- Bansal, A. K., et Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary medicine international*, 2011: 1-7. doi: 10.4061/2011/686137.
- Batool, SA, Arshad, MU, Ahmed, RS, et Anjum, FM. (2020). Caractérisation de différentes variétés de dattes avec une référence particulière à leur potentiel antioxydant et essai de bioévaluation contre l'hypercholestérolémie. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 56 (4), 1133-1140.
- Béhi, Y. E., Mollet, M., Girardin, O., Sorg, J. P., et Herzog, F. (2002). Le vin de palme, aliment et source de revenu pour les populations rurales en Côte d'Ivoire. *International Journal Biological Chemical Sciences*, 153(4), 123-129.
- Bennett, RN et Wallsgrove, RM. (1994). Métabolites secondaires dans les mécanismes de défense des plantes. *Nouveau phytologue*, 127 (4), 617-633.
- Bensekrane B., Gallart-Mateu D., De la guardia M., Harrache D. (2014). Effet des extraits de noyaux de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) sur la cristallisation de la brushite dans l'urine totale, phytothérapie, 13 : 2-13.

- Bhatti, SG, et Bhatti, AG. (2019). Caractérisation des composés nutritionnels et bioactifs à Ajwa en comparaison avec les cinq autres variétés de dattes de palmier. *Journal of Agriculture and Food Research*.10, 253.
- Boudechiche, L., Araba, A., Tahar, A., et Ouzrout, R. (2009). Etude de la composition chimique des noyaux de dattes en vue d'une incorporation en alimentation animale. *Livestock Research for Rural Development*, 21(5). <http://www.lrrd.org/lrrd21/5/boud21069.htm>
- Boussena Z. et Khali M. (2016). Extraction and Chemical Composition of Algerian Date Seeds Oil. *Nutrition et Santé*. 5 (2) : 100-106.
- Bruneton J.1999. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec et Doc. Paris.
- Cho, KH et Wolkenhauer, O. (2003). Analysis and modelling of signal transduction pathways in systems biology. *Biochemical Society Transactions*. 31(Pt 6):1503-1509. doi: 10.1042/bst0311503.
- Coley PD, Heller MV, Aizprua R, Arauz B, Flores N, Correa M, Gupta M, Solis PN, Ortega-Barría E, Romero LI, Gómez B, Ramos M, Cubilla-Rios L, Capson TL, Kursar TA. (2003). Using ecological criteria to design plant collection strategies for drug discovery. *Frontiers in Ecology and the Environment*.1: 421–428.
- David G. W. (2015). *Encyclopedia of Mind Enhancing, Foods, Drugs and Nutritional Substances*. Second edition. Edition Mcfarland et Company, Iuc, Publishers Jefferson, North Carolina. p 166.
- De Albuquerque Mendes, MK, dos Santos Oliveira, CB, Veras, MDA, Araújo, BQ, Dantas, C., Chaves, MH, ... et Vieira, EC. (2019). Application de l'optimisation multivariée pour l'extraction sélective de composés phénoliques dans les noix de cajou (*Anacardium occidentale* L.). *Talanta*, 205, 120100.
- De Oliveira, D. R. (2018). A consolidação das práticas integrativas e complementares no século 21. *VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde*, 30(1), 7-8.
- Defraigne, J. O., et Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
- Deponte, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1830 (5), 3217-3266.
- Djaoudene, O., López. V., Cásedas G., Les F., Schisano C., Bachir Bey, M., Tenore, GC. (2019). *Phoenix dactylifera* L. seeds: a by-product as a source of bioactive compounds with antioxidant and enzyme inhibitory properties. *Food et Function*. 1 ;10(8) :4953-4965. Doi : 10.1039/c9fo01125k.
- Djerbi M., (1994), Précis de phoeniculture. Food and agriculture organization, 192p
- Dubost D. (1991). *Ecologie, aménagement et développement agricole des oasis algériennes*. Thèse de doctorat, université de Tours, France, 191p.

- Espiard, E. (2002). Introduction to the industrial transformation of fruits. Introduction to the industrial transformation of fruits. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108 (10), 863-832.
- Ferry, M. (1994). Le développement de la culture du palmier dattier dans les Territoires Autonomes. Recommandations et propositions, Estación Phoenix/Consulat Général de France à Jerusalem.
- Figueiredo MSL, Grelle CEV. (2009). Prédire l'abondance mondiale d'une espèce menacée à partir de son apparition : implications pour la planification de la conservation. *Diversity and Distribution*, 15 : 117-121
- Foyer, CH et Noctor, G. (2005). Signalisation oxydante et antioxydante chez les plantes : une réévaluation du concept de stress oxydatif dans un contexte physiologique. *Plant, Cell et Environment*, 28 (8), 1056-1071.
- Fürst, R., et Zündorf, I. (2015). Evidence-based phytotherapy in Europe: where do we stand. *Planta Medica*, 81(12-13), 962-7.
- Galetti, M., et Fernandez, JC. (1998). Récolte de cœur de palmier dans la forêt atlantique brésilienne : changements dans la structure de l'industrie et commerce illégal. *Journal of Applied Ecology*, 35 (2), 294-301.
- Gasim. (1994). Changes in sugar quality and mineral elements during fruit development in five date palm cultivars in AI-Madinah AI-Munawwarah *Journal of King Abdul Aziz University, Science*, 6, pp. 29-36.
- Hamad, I., AbdElgawad, H., Al Jaouni, S., Zinta, G., Asard, H., Hassan, S., Hegab, M., Hagagy, N., et Selim, S. (2015). Metabolic Analysis of Various Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera* L.) Cultivars from Saudi Arabia to Assess Their Nutritional Quality Molecules, 20, 13620-13641
- Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. De Boeck Supérieur.
- Houari, O. (1992). Situation du patrimoine phœnicicole et marché de la datte. In Symposium de la datte. Biskra le (Vol. 24).
- Hussain, M. I., Semreen, M. H., Shanableh, A., Khattak, M. N. K., Saadoun, I., Ahmady, I. M., ... et Soliman, S. S. (2019). Phenolic composition and antimicrobial activity of different emirati date (*Phoenix dactylifera* L.) pits: A comparative study. *Plants*, 8(11), 497.
- Ibrahim, A. I., Hemeida A. A., Abdelkader Hayam S., et al., (2011) « Genetic variance between some Egyptian Date Palm cultivars using PCR-based markers with emphasis on the prevalence of Al wijam disease ». *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 44 (8, May 2011), 732-74.
- Jassim, SA, et Naji, MA (2010). Evaluation in vitro de l'activité antivirale d'un extrait de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) piqûre sur un phage de Pseudomonas. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves*, 7 (1), 57-62.

- Jubayer, F., Kayshar, S., et Rahaman, M. (2020). Effets de la poudre de graines de datte Ajwa sur les lipides sériques chez l'homme : essai clinique randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo. *Journal of Herbal Medicine*, 24, 100409.
- Khalid, S., Ahmad A., Masud T., Asad MJ, Sandhu M. (2016). Nutritional assessment of Ajwa date flesh and pits in comparison to local varieties. *Journal of Plant and Animal Sciences*. 26(4): 1072 – 1080.
- Khalid, S., Ahmad, A., et Kaleem, M. (2017a). Activité antioxydante et teneur en phénols de la datte Ajwa et leur effet sur le profil lipoprotéique. *Functional Foods in Health and Disease*, 7 (6), 396-410.
- Khalid, S., Khalid, N., Khan, R. S., Ahmed, H., et Ahmad, A. (2017b). A review on chemistry and pharmacology of Ajwa date fruit and pit. *Trends in food science et technology*, 63, 60-69.
- Lindau-Shepard, B. A., et Shaffer, J. B. (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SV-B2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(6), 581-588.
- Linné C. (von) (1753). *Species Plantarum*, tome 2. Stockholm, Impensis Laurentii Salvii, 776 p.
- Lugasi, A. (2003). Le rôle des phytonutriments antioxydants dans la prévention des maladies. *Acta biologica szegediensis*, 47 (1-4), 119-125.
- Mahjoub, A., et Jraidí, Z. (1992). Elaboration d'une boisson gazeuse et d'une confiture aromatisée à partir de deux variétés de dattes. *INAT*, 7, 37-44. <https://www.pist.tn/record/135877/>
- Médart, J. (2009). *Manuel pratique de nutrition : l'alimentation préventive et curative*. Ed De Boeck Supérieur.
- Messar, E. M. (1996). Le secteur phœnicicole algérien : situation et perspectives à l'horizon 2010. *Options méditerranéennes*, 2, 210-221.
- Migdal, C., et Serres, M. (2011). Reactive oxygen species and oxidative stress. *Medecine Sciences*, 27(4), 405-412.
- Munier, P. (1973) *Le palmier dattier. Techniques Agricoles et Productions Tropicales*. Paris 5eme Ed Maisonneuve et Larose, 217. [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1077614](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1077614)
- Perveen, S., et Al-Taweel, A. (éd.). (2018). *Terpènes et terpénoïdes*. BoD - Livres à la demande.
- Peyron G. (2000) : *Cultiver le palmier dattier*. C.I.R.A. D Montpellier, France, pp : 13-66.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A. (2017). Stress oxydatif : méfaits et avantages pour la santé humaine. *Medicine and Cellular Longevity*. 2017 : 8416763. [Doi : 10.1155/2017/8416763](https://doi.org/10.1155/2017/8416763)

- Rahmani, AH, Aly, SM, Ali, H., Babiker, AY et Srikar, S. (2014). Effets thérapeutiques des dattes (*Phoenix dactylifera*) dans la prévention des maladies via la modulation de l'activité anti-inflammatoire, anti-oxydante et anti-tumorale. *Revue internationale de médecine clinique et expérimentale*, 7 (3), 483.
- Reynaert, N. L., Aesif, S. W., McGovern, T., Brown, A., Wouters, E. F., Irvin, C. G., et Janssen-Heininger, Y. M. (2007). Catalase overexpression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The Journal of Immunology*, 178(6), 3814-3821.
- Roussel, A. M. (2009). Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir ? *Cahiers de nutrition et de diététique*, 44(5), 230-236.
- Sadani, GR et Nadkarni, GD. (1997). Modifications des taux de peroxyde lipidique et de l'activité des systèmes réactifs de piégeage de l'oxygène dans les tissus thyroïdiens après exposition à l'iode radioactif chez le rat. *Thyroïde*, 7 (6), 937-941.
- Sanocka, D. et Kurpisz, M. (2004). Espèces réactives de l'oxygène et spermatozoïdes. *Biologie de la reproduction et endocrinologie*, 2 (1), 1-7.
- Sarfraz, M., Khaliq, T., Khan, JA et Aslam, B. (2017). Effet de l'extrait aqueux de poivre noir et de graines d'ajwa sur les enzymes hépatiques chez les rats albinos Wister diabétiques induits par l'alloxane. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25 (4), 449-452.
- Selim SA, El Alfy S., Al-Ruwaili M., Abdo A., Al Jaouni S. (2012). Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* résistant à l'imipénem aux glycosides flavonoïdes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) tamar poussant à Al Madinah. Arabie Saoudite. *African Journal of Biotechnology*. 11 416-422.
- Sies, H. (1997). Stress oxydant : oxydants et antioxydants. *Physiologie expérimentale : traduction et intégration*, 82 (2), 291-295.
- Sulieman, A., Elhafise I, Abdelrahim A. Comparative study on five Sudanese date (*Phoenix dactylifera* L.) fruit cultivars. *Food Science et Nutrition*. (2012) ; 3 :1245–1251)18.
- Terral, JF, Newton, C., Ivorra, S., Gros Balthazard, M., de Moraes, CT, Picq, S. (2012). Insights into the historical biogeography of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) using geometric morphometry of modern and ancient seeds. *Journal of Biogeography*, 39 (5), 929-941.
- Toutain G. (1967). Travaux sur les fusarioses. I. Travaux sur le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du Nord. *Annales des épiphyties*. 18(2), 213-239.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, MM et Mazur, M. (2006). Radicaux libres, métaux et antioxydants dans le cancer induit par le stress oxydatif. *Interactions chimico-biologiques*, 160 (1), 1-40.
- Yoo, K. M., Lee, C. H., Lee, H., Moon, B. et Lee, C Y. (2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*.106: 929-936.
- Zaid, A., et De Wet, P. F. (1999). Chapter I botanical and systematic description of date palm. *FAO plant production and protection papers*, 1-28.

Zihad, SNK, Uddin, SJ, Sifat, N., Lovely, F., Rouf, R., Shilpi, JA, Sheikh, BY., et Göransson, U. (2021). Antioxidant properties and phenolic profiling by UPLC-QTOF-MS of Ajwah, Safawy and Sukkari cultivars of date palm. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 18(25):100909. [Doi: 10.1016/j.bbrep.2021.100909](https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100909).

## ملخص

تمور *L. Ajwa Phoenix dactylifera* هي شعار أرض الصحراء الشرقية. لها قيمة دينية وطبية واقتصادية. نواة تمور العجوة كانت موضوع دراسات عديدة، من حيث التركيب في المواد الكيميائية النباتية، ومضادات الأكسدة ذات التأثيرات العلاجية، من أجل دمجها في تركيبات علاج العديد من الأمراض.

الهدف من هذا العمل هو تحديد محتوى نواة تمور العجوة في المركبات الفينولية (البوليفينول الكلي، الفلافونويد، العفص المكثف)، وتقييم القدرة المضادة للأكسدة بطرق مختلفة في المختبر.

يتم تحضير مستخلص مسحوق نواة التمر من خلال عمليتي استخلاص بواسطة جهاز Soxhlet، الأولى بالهكسان لشطف الدهون، والثانية بالخلط مع حجم مكافئ من المذيبات القطبية المتزايدة (ميثانول، إيثانول، أسيتون). يتم تحديد محتوى البوليفينول بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu، الفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم والعفص بواسطة Vanillin HCl يتم تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة CAT و DPPH و FRAP و ABTS.

محتويات البوليفينول الكلي، الفلافونويد والعفص واعدة للغاية، مع 3,645 مغ/ES EAG ؛ 2,558 مغ/ES EC ؛ 3.605 مغ/ES EC غ على التوالي. إجمالي السعة المضادة للأكسدة التي تم الحصول عليها إلى 0.482 مغ/ES EAA ، يمثل اختبار DPPH النشاط الأكثر أهمية 0.0112 ميكروغرام / مل ، تثبيط الجذور ABTS 81.739 ميكروغرام / مل ، وإمكانية ارجاع الحديد لكميات مستخلص نواة العجوة إلى 416.66 ميكروغرام / مل.

تحتوي نواة التمر على نسبة عالية من مضادات الأكسدة الطبيعية التي تساهم في تطوير المكملات الطبية والغذائية لعلاج الأمراض المختلفة المتعلقة بالإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية:** *L. Phoenix dactylifera* العجوة، نواة. نشاط مضادات الأكسدة، مركبات الفينولية.

## Abstract

The dates *Ajwa Phoenix dactylifera* L. is the emblem of the Saharan eastern countries, they have religious, medicinal, and economic value. Ajwa date pits have been the subject of several studies, concerning their composition in phytochemical and antioxidant molecules with therapeutic effects, in order to integrate them into the formulations of treatment of many pathologies.

The objective of this work is to determine the content of Ajwa date pits in phenolic compounds (total polyphenols, total flavonoids, condensed tannins) and to assess antioxidant capacity by various in vitro methods. The extract of the kernel powder is prepared by two successive extractions by Soxhlet, the first by hexane for fat removal, the second by a mixture of polar solvents (methanol, ethanol and acetone). The polyphenol content is determined by the Folin-Ciocalteu method, the flavonoids by the aluminium trichloride method and the tannins by the HCl vanillin. Antioxidant activity is evaluated by CAT, DPPH, FRAP and ABTS.

The contents of total polyphenols, flavonoids and tannins are very promising, 3, 645 mg EAG/g ES; 2,558 mg EC/g ES; 3,605 mg EC/g ES respectively. The total antioxidant capacity obtained is estimated at 0.482 mg EAA/g ES, the DPPH test represents the most important activity 0.0112 µg/ml, the trapping of the ABTS radical 81.739 µg/ml, the reduction potential of iron by Ajwa core extract is 416.66 µg/ml.

Ajwa date pits are high in natural antioxidants that contribute to the development of drug and food supplements for the treatment of various oxidative stress-related diseases.

**Key words:** *Phoenix dactylifera* L., Ajwa, seed, antioxidant activity, phenolic content.

## Résumé

Les dattes *Ajwa Phoenix dactylifera* L. est l'emblème des pays orientaux sahariens, elles ont une valeur religieuse, médicinale, et économique. Les noyaux de dattes Ajwa ont fait l'objet de plusieurs études, quant à leur composition en molécules phytochimiques et antioxydants aux effets thérapeutiques, afin de les intégrer dans les formulations de traitement de nombreuses pathologies.

L'objectif de ce travail est de déterminer la teneur des noyaux de datte Ajwa en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, tanins condensés) et d'évaluer la capacité antioxydante par différentes méthodes *in vitro*.

L'extrait de la poudre de noyaux est préparé par deux extractions successives par Soxhlet, la première par l'hexane pour l'élimination de matière grasse, la deuxième par un mélange à volume équivalent de solvants polaires (méthanol, éthanol et acétone). La teneur en polyphénols est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium et les tanins par la vanilline HCl. L'activité antioxydante est évaluée par la CAT, DPPH, FRAP et ABTS.

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins sont très prometteuses 3, 645 mg EAG/g ES ; 2,558 mg EC/g ES ; 3,605 mg EC/g ES respectivement. La capacité antioxydante totale obtenue est évaluée à 0,482 mg EAA/g ES, le test au DPPH représente l'activité la plus importante 0,0112 µg/ml, le piégeage du radical ABTS 81,739 µg/ml, le potentiel de réduction du fer par l'extrait de noyau d'Ajwa s'élève à 416,66 µg/ml.

Les noyaux de dattes Ajwa présentent une forte teneur en antioxydants naturels qui contribuent à l'élaboration de compléments médicamenteux et alimentaires pour le traitement de diverses maladies liées au stress oxydatif.

**Mots clés :** *Phoenix dactylifera*, Ajwa, noyaux, composés phénoliques, activité antioxydante,