



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



Université Abbès Laghrour de Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Option: Biochimie Appliquée

Présenté par :

Sraoui Loubna

Smaali Sara

Thème

Détermination des activités biologiques in vitro des feuilles du palmier dattier

Jury de soutenance

- Président Dr. BOUAZZA Lyas (MCA) Université Abbès Laghrour de Khenchela
- Encadreur Dr. Boufennara souhil (MCA) Université Abbès Laghrour de Khenchela
- Examineur Dr. Kara ali Wahiba (MCB) Université Abbès Laghrour de Khenchela

Année Universitaire 2020-2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

«ومن ثمرات النخيل و الأعناب تتخذون منه سكرا و رزقا حسنا» سورة النحل-67

Au nom d'Allah le tout miséricordieux, le très miséricordieux :

«Des fruits des palmiers et des vignes, vous retirez une boisson enivrante et un aliment excellent» L'abeille-67.

«وهزي إليك بجذع النخلة تساقط عليك رطبا جنيا» سورة مريم-26

« Secoue vers toi le tronc du palmier: il fera tomber sur toi des dattes fraîches et mûres» Maryam-26.

عن رسول الله صلى الله عليه و سلم «كلوا التمر على الريق فانه يقتل الديدان في البطن»

Du Messenger d'Allah (paix soit sur lui) «Manger la datte sur un estomac vide, parce qu'elle tue les vers dans l'abdomen».

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude
L'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout
Simplement que :

Je dédie ce mémoire de fin d'étude à :

À mon cher Père Al-yamine

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À ma très chère mère Naziha

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mes chers frères : Nadjet, choukri, Soufiane, Shihab el-dine.

À mes amies de toujours : Linda, Assma, Zina, Asmahane, Chaima, Maner: En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

À mon binôme Sara.



Loubna

Dédicace



Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout
simplement que :

Je dédie ce mémoire de fin d'étude à :

A mon cher Père Nacer

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai
toujours eu pour vous.

A ma très chère mère Fatima

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la
source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier
pour moi. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites
pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon
enfance et même à l'âge adulte. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.
Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mes chers frères : Mohamed, Fares, Khalil

A mes très chères sœurs : Walida, Malek

A mon amie de toujours : Chafika

A mes cousins : Rayan, Aicha, Ibtissem, Hakima

À mes amies de toujours : Khawla, Hafidha, Anfel, Karima, Zahra, Salma : En
souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés
ensemble.

A mon binôme Loubna.

Sara

Remerciement

Nous remercions dieu tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Au terme de ce travail, nous voudrions exprimer nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à notre encadreur Mr. Bouffonnerasouhilpour sa disponibilité, son sérieux et ses conseils judicieux et aussi pour sa gentillesse. Pour son encadrement rigoureux efficace et sympathique.

Nos remerciements les plus profonds au M^{me} Souad pour nous avoir facilité le travail au niveau du laboratoire, Pour leur disponibilité, leurs recommandations et leurs conseils précieux.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux et celles ayant contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin.

Loubna-Sara

Sommaire

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction 1

Partie I. Synthèse Bibliographique

Chapitre I: Généralités sur le Palmier dattier

1. Palmier dattier.....	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Taxonomie du palmier dattier.....	3
1.3. Biologie du palmier dattier.....	3
1.3.1. Morphologie du palmier dattier.....	3
➤ Le système racinaire.....	3
➤ Le stipe ou tronc.....	4
➤ Les feuilles.....	4
➤ Les organes floraux.....	5
✓ La fleur femelle.....	5
✓ La fleur mâle.....	5
1.4. Répartition géographique du <i>Phoenix Dactylifera</i> L.....	6
➤ Répartition Dans le monde.....	6
➤ Répartition en Algérie.....	6
1.5. Stades de développement du fruit de palmier dattier.....	7

1.6. Composition biochimique de la datte	8
1.6.1. Eau	8
1.6.2. Sucre	8
1.6.3. Protéine et acide gras	8
1.6.4. Minéraux et vitamines.....	8
1.6.5. Enzymes.....	9
✓ Invertase.....	9
✓ Polygalacturonases et pectinesterases.....	9
✓ Polyphénoloxydase et peroxydases.....	9
1.6.6. Composés Phénoliques	10
✓ Acides Phénoliques.....	10
✓ Flavonoïdes.....	10
✓ Anthocyanines	11
1.7. Activités biologiques et pharmacologiques des dattes	12
1.7.1. Utilisations des dattes en médecine traditionnelle.....	12
1.7.2. Activités biologiques et mécanismes d'action.....	12

Partie II. Partie Expérimentale

Chapitre II: Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes	14
1.1. Matériels.....	14
1.1.1. Matériel végétal	14
1.1.2. Produits chimiques et appareillages.....	14
1.1.3. Préparation de l'extrait	14
1.1.4. Rendement de l'extrait.....	15
1.2. Méthodologie.....	16
1.2.1. Screening phytochimique qualitative	16

1.2.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes	16
1.2.1.2. Mise en évidence des tannins	16
1.2.1.3. Mise en évidence des saponosides	17
1.2.1.4. Mise en évidence des mucilages.....	17
1.2.1.5. Test du sucre réducteur	17
1.2.2. Etude quantitative.....	17
1.2.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	17
1.2.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes	18
1.2.3. Activités biologiques	19
1.2.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante (Test de DPPH)	19
1.2.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	21

Chapitre III: Résultats et discussion

1. Résultats et discussion.....	23
1.1. Rendement d'extraction.....	23
1.2. Analyse phytochimique qualitative.....	23
1.2.1. Screening phytochimique.....	23
1.3. Analyse phytochimique quantitative.....	25
1.3.1. Teneur en polyphénols totaux.....	25
1.3.2. Teneur en flavonoïdes.....	26
1.4. Evaluation de l'activité biologique.....	28
1.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante	28
1.4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	30
<i>Conclusion</i>	33

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Les substances naturelles issues de la biomasse des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans la biotechnologie tant dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Parmi ces composés on retrouve une grande partie des métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapie.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions, les études des métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vitro* et *in vivo* de tissus végétaux. C'est le cas notamment des composés phénoliques qui font l'objet de notre étude, composés largement utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydant et antibactérienne. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique qualitative et quantitative et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne.

L'activité antioxydante a été déterminée par le test du DPPH ainsi que l'activité antibactérienne a été testée par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre quatre souches bactériennes.

L'analyse qualitative et quantitative d'extrait de feuilles de datte a révélé la présence des polyphénols totaux, les flavonoïdes, les tannins, les saponosides et les sucres réducteurs. Le taux des polyphénols est remarquablement très élevé par rapport aux flavonoïdes qu'est 627.8mg EAG/100g de MS contre 244mg EQ/100g MS pour les flavonoïdes.

Le test de DPPH a révélé une activité anti-radicalaire élevé avec une IC_{50} égale à 89.35%. Par ailleurs, le test de l'activité antibactérienne vis-à-vis des quatre souches *E. coli*, *K.sp*, *S.aureus* a révélé l'activité de l'extrait contre la souche la plus sensible qu'est *B. subtilis* avec un maximum d'inhibition allant jusqu'à 9.62 ± 0.28 mm.

Mots clés: Feuilles de *Palmier dattier*, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

Natural substances derived from plant biomass have multiple interests that are exploited in biotechnology in the food, cosmetic and pharmaceutical industries. Among these compounds we find a large part of the secondary metabolites which have been particularly illustrated in therapy. Traditional herbal remedies have long been used without knowing what their actions were due, studies of secondary metabolites are the subject of much research based on in vitro and in vivo cultures of plant tissues.

This is particularly the case with the phenolic compounds that are the subject of our study, compounds widely used in therapy as vasculoprotectors, anti-inflammatories, enzyme inhibitors, antioxidants and antibacterials. In this context, the present work concerns a qualitative and quantitative phytochemical study and the evaluation of the antioxidant and antibacterial activity.

The antioxidant activity was determined by the DPPH test as well as the antibacterial activity was tested by the agar diffusion method against four bacterial strains.

Qualitative and quantitative analysis of date leaf extract revealed the presence of total polyphenols, flavonoids, tannins, saponins and reducing sugars. The level of polyphenols is remarkably very high in relation to the flavonoids which is 627.8mg EAG / 100g of DM against 244mg EQ / 100g of MS for flavonoids.

The DPPH test revealed a high anti-free radical activity with an IC₅₀ equal to 89.35%. In addition, the test of the antibacterial activity vis-à-vis the four strains *E. coli*, *K.sp*, *S. aureus* revealed the activity of the extract against the most sensitive strain which is *B. subtilis*. With a maximum inhibition of up to 9.62 ± 0.28 mm.

Key words: Date palm leaves, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص :

الموارد الطبيعية المشتقة من الكتلة الحيوية النباتية لها اهتمامات متعددة تستخدم في التكنولوجيا الحيوية في الصناعات الغذائية ومستحضرات التجميل والأدوية. من بين هذه المركبات نجد جزءا كبيرا من المستقلبات الثانوية التي تم توضيحها بشكل خاص في العلاج. لطالما استخدمت العلاجات العشبية التقليدية دون معرفة ماهية تأثيرها، ودراسات الأيضات الثانوية هي موضوع الكثير من الأبحاث القائمة على الثقافات المختبرية والحيوية للأنسجة النباتية. هذا هو الحال بشكل خاص مع المركبات الفينولية التي هي موضوع دراستنا، والمركبات المستخدمة على نطاق واسع في العلاج كأدوية مضادة للالتهابات ومثبطات الأنزيم ومضادات الأكسدة ومضادات الجراثيم.

في هذا السياق يتعلق العمل الحالي بدراسة كيميائية نباتية نوعية وكمية وتقييم نشاط مضادات الأكسدة والبكتيريا. تم تحديد نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبار DPPH وكذلك تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة نشر الأجار ضد أربع سلالات بكتيرية

أظهر التحليل النوعي و الكمي لمستخلص أوراق التمر وجود البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفن والصابونين والسكريات المختزلة. مستوى البوليفينول مرتفع بشكل ملحوظ فيما يتعلق بالفلافونويد وهو 627.8 مج/100 EAG/ جم من DM مقابل 244 مج/100 EQ/ جم من MS للفلافونويد.

اختبار ال DPPH كشف عن نشاط عالي ضد الجذور الحرة مع IC50 يساوي 89.35% بالإضافة الى ذلك، أظهر اختبار النشاط المضاد للبكتيريا مقابل السلالات الأربعة *E.coli-K.sp-S.aureus* نشاط المستخلص ضد السلالة الأكثر حساسية وهي بكتيريا *B.subtilis* مع أقصى قدر من تثبيط البكتيريا. يصل الى 0.28 ± 9.62 ملم.

الكلمات المفتاحية: أوراق النخيل، البوليفينول، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Liste des abréviations

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazy

DMSO : diméthyle sulfoxyde

EAG : équivalent acide gallique

FCR : réactif de Folin-Ciocalteu

FeCl₃ : perchlorure de fer

FSH : hormone folliculo-stimulante

HCl : acide chlorhydrique

IC₅₀ : concentration d'inhibition

LDH : Lactate Déshydrogénase Humaine

LDL : Low Density Lipoprotein

LH : hormone lutéinisante

MeOH : méthanol

MS : matière sèche

NaCO₃ : carbonate de sodium

NaOH : Soude

OH : radical hydroxyle

PPO : polyphénoloxydase

PPT : polyphénols totaux

Liste des figures

Figure 1. Les différentes parties aériennes et souterraines du palmier dattier	4
Figure 2. Schéma d'une palme.....	5
Figure 3. Inflorescences et fleurs du palmier dattier.....	6
Figure 4. Distribution du palmier dattier en Algérie.....	7
Figure 5. Les différents stades d'évolution de la datté de gauche à droite	8
Figure 6. Réaction générale de l'oxydation des polyphénols	9
Figure 7. Structures des acides phénoliques présentes dans les dattes	10
Figure 8. Structures des flavonoïdes présentes dans les dattes	11
Figure 9. Structures des anthocyanines présentes dans les dattes.....	12
Figure 10. Protocole de préparation de l'extrait méthanolique des feuilles de palmier dattier... ..	15
Figure 11. Forme libre et réduite du DPPH	20
Figure 12. Mise en évidence des flavonoïdes	24
Figure 13. Mise en évidence des tannins	24
Figure 14. Mise en évidence des saponosides.....	24
Figure 15. Mise en évidence des mucilages.....	24
Figure 16. Mise en évidence des sucres réducteurs	25
Figure 17. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	25
Figure 18. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	27
Figure 19. Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique.....	29

Liste des tableaux

Tableau 1. Compositions minérales et vitaminiques des dattes	9
Tableau 2. Propriétés biologiques et pharmacologiques des composés phénoliques	13
Tableau 3. Screening phytochimique de la plante	23
Tableau 4. Valeur du pourcentage d'inhibition du DPPH pour l'extrait	28
Tableau 5: Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (D)	30
Tableau 6. Diamètre des zones d'inhibition (mm) d'extrait méthanolique	31

Introduction

Au travers des temps, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants, en particulier l'homme, est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique.

Le dattier, *Phoenix dactylifera* L. (Arecaceae), est un palmier subtropical anciennement domestiqué (Munier, 1973). Il est largement cultivé pour ses multiples usages et ses services écosystémiques, en particulier pour ses fruits comestibles dont des milliers de variétés ont été sélectionnées (Bouguédoura, 1979) et pour sa capacité d'adaptation aux conditions des climats arides les plus sévères (Ben Aïssa, 2008). Sa présence crée un microclimat permettant le développement de diverses formes de vie animale et végétale indispensables pour le maintien et la survie des populations du désert (El-Houmaizi, 2002). Le palmier dattier avec le cocotier est abondamment cultivé, mais non naturalisé (PERRIER DE LA BATHIE, 1933).

La dattes constitue l'aliment de base des populations locales et nomades du Sahara. Elle fait également l'objet d'une activité commerciale importante et généralement destinée à l'alimentation animale. Le fruit n'est pas le seul produit de la culture du dattier. Ainsi, en plus des produits alimentaires à base de dattes, tous ses autres organes ou parties d'organes sont utilisés (Bouna, 2002). Divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique des feuilles de dattes en : Sucres, protéines, lipides, fibres et minéraux tandis que les études sur ses polyphénols restent peu nombreuses.

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont l'un des plus importants groupes de composés présents dans les plantes, où sont largement distribués, comprenant au moins 8000 différentes structures connues (Biyiti *et al.*, 2004). Les polyphénols sont également des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ces composés sont signalés et présentent une activité antioxydante remarquable et jouent un rôle d'inhibiteur des radicaux libres efficaces comme l'anion superoxyde, l'hydroxyle, l'oxyde de nitrique, le peroxyde de nitrogène et l'activité antimicrobienne (Yangthong *et al.*, 2009). Les polyphénols possèdent une potentialité dans la prévention des maladies chroniques, cardiovasculaires, le cancer, l'ostéoporose, le diabète sucré, les maladies neurodégénératives, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, anti-athérogènes et antithrombotique. Leur activité protectrice a été attribuée

initialement à leurs propriétés antioxydantes, anti-radicaux libres et les propriétés de chélateur de métaux, puis à la capacité d'inhibiter ou de réduire différentes enzymes (Karmakar *et al.*, 2011).

L'objectif de ce projet de fin d'étude est l'évaluation de l'activité anti-oxydante et antibactérienne des feuilles de *Phoenix dactylifera* L(palmier dattier), ainsi de chercher ses propriétés organoleptiques et pharmacologique (activité antioxydante et antibactérienne).

La présentation de notre travail est structurée en une introduction générale, une partie bibliographique suivie de la partie expérimentale puis une conclusion.

La synthèse bibliographique concerne une généralité sur le palmier dattier via une description botanique, classification systématique, composition en métabolites primaires et secondaires, suivi de leurs activités biologiques et l'utilisation traditionnelle.

La deuxième partie décrit l'étude expérimentale contenant le chapitre matériel et méthodes suivi du chapitre décrivant les résultats obtenus accompagnés de la discussion.

Introduction

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur le Palmier dattier

Chapitre II

Traitement des aliments aux UV-C

Partie II

Partie Expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

Chapitre IV

Résultats et discussion

Annexes

Conclusion

1. Palmier dattier

1.1. Définition

Le palmier dattier, nommé «*Phoenix dactylifera L.*» par Linné en 1734, provient du mot «*phoenix*» signifiant datte chez les phéniciens, et «*dactylifera*» dérivé du «*dactulos*» signifiant doigt, en raison de la forme du fruit (Djerbi, 1994). C'est une espèce dioïque, monocotylédone arborescente, appartenant à la famille des palmacées (Gilles, 2000 ; Mazoyer, 2002), son tronc (ou stipe) très élancé, vertical et cylindrique de couleur brune et pouvant atteindre 30 à 40 m de hauteur (Arib, 1998).

Le palmier dattier est cultivé comme arbre fruitier dans les régions chaudes arides et semi-arides (Gilles, 2000).

1.2. Taxonomie du palmier dattier

En 1994, Djerbi a donné la classification systématique du palmier dattier comme suivante :

Groupe: *Spadiciflores*

Embranchement: *Angiospermes*

Classe: *Monocotylédones*

Ordre: *Palmales*

Famille: *Palmacées*

Sous Famille: *Coryphoidées*

Tribu: *Phoenicées*

Genre: *Phoenix*

Espèce: *Phoenix dactylifera L.*

1.3. Biologie du palmier dattier

1.3.1. Morphologie du palmier dattier

➤ Le système racinaire

(Munier.,1973) note que le système racinaire est de type fasciculé. Les racines ne se ramifient pas et n'ont relativement que des radicelles et le bulbe ou plateau racinaire est volumineux et est émergé en partie au-dessus du niveau du sol [Figure 1].

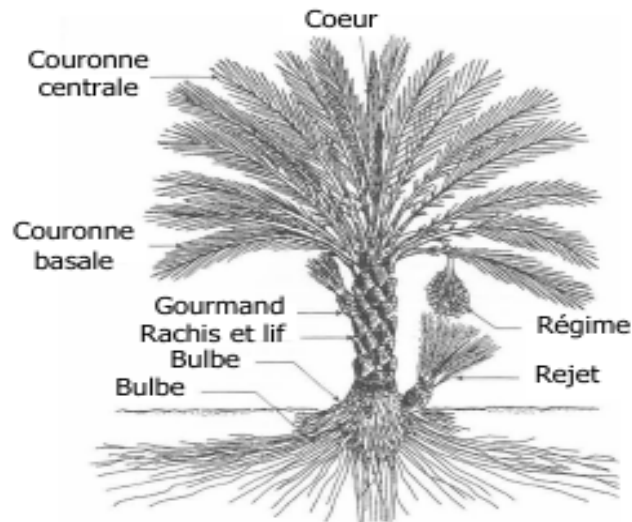


Figure 1. Les différentes parties aériennes et souterraines du palmier dattier (Munier., 1973).

➤ Le stipe ou tronc

(Chelli., 1996) décrit que le stipe est d'une grosseur variable selon les variétés, il peut varier selon les conditions du milieu pour une même variété. Ainsi, il possède une structure très particulière, il est formé de vaisseaux disposés sans ordre et noyés dans un parenchyme fibreux [Figure 2]. D'après (Wertheimer., 1956), le stipe est recouvert par les bases des palmes qu'on appelle « cornaf ». Un palmier peut donner environ 17 rejets au cours de son existence.

➤ Les feuilles

Les feuilles du dattier sont appelées palmes ou djerids. Elles ont une forme pennée et sont insérées en hélice, très rapprochées sur le stipe par une gaine pétiolaire bien développée « cornaf » enfouie dans le « life » (Belhabib., 1995) [Figure 2]. Les palmes sont en nombre variable sur palmier. Le palmier le mieux tenu contient de 50 à 200 palmes (Benchenouf., 1971). La couronne est donc l'ensemble des feuilles à l'extrémité du stipe. Celles-ci peuvent être disposées en spirales plus ou moins denses, remplir une sphère, ou être concentrées dans les trois-quarts ou la moitié supérieure de la sphère.

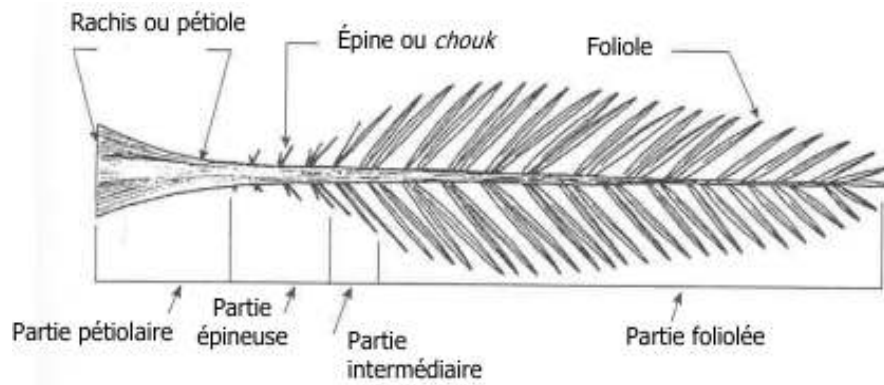


Figure 2. Schéma d'une palme (Munier.,1973).

➤ Les organes floraux

D'après (Peyron., 2000), tous les *Phoenix*, et donc le palmier dattier, sont des arbres dioïques. Les sexes étant séparés, il existe donc des pieds mâles donnant du pollen et des pieds femelles produisant des fruits, les dattes. Les fleurs sont portées par des pédicelles, ou des épillets qui sont à leur tour sont portés par un axe charnu, la hampe ou spadice. Selon le même auteur, l'ensemble est enveloppé dans une grande bractée membraneuse close, la spathe.

✓ La fleur femelle

Elle est globuleuse, d'un diamètre de 3 à 4 mm et est formée de 3 sépales soudés. Une corolle formée de 3 pétales ovales et arrondies et 6 étamines avortées. Le gynécée comprend 3 carpelles indépendants à un seul ovule (Munier., 1973) [Figure 3]. Selon (Amorsi., 1975), la sortie des fleurs «Talâa » a lieu de la fin Janvier jusqu'au début Mai selon les variétés et l'année.

✓ La fleur mâle

De forme allongée, constituée d'un calice composé de 3 spathe soudées par leurs bases, de 3 pétales légèrement allongées formant la corolle. La fleur possède 6 étamines à déhiscence interne et trois pseudo-carpelles (Belhabib., 1995) [Figure 3]. Après l'éclatement de la spathe mâle (fin Janvier), la fleur laisse échapper un pollen. Chaque spathe porte 160 branchettes et donne 40 à 45 g de pollen (Belhabib., 1995).

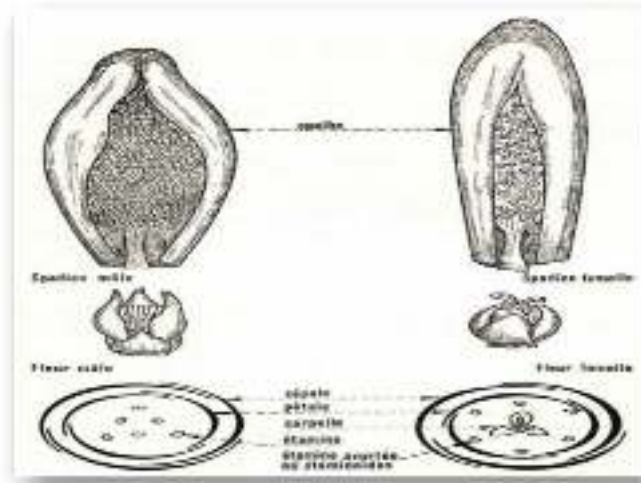


Figure 3. Inflorescences et fleurs du palmier dattier (Munier.,1973).

1.4. Répartition géographique du *Phoenix Dactylifera* L.

➤ Répartition Dans le monde

Le palmier dattier est localisé dans les régions, là où les conditions climatiques le permettent, entre les latitudes 35° Nord et 15° Nord. Sa culture est localisée sur la rive méditerranéenne de l'Afrique jusqu'au proche-orient, depuis le sud de l'Iran jusqu'à la côte atlantique de l'Afrique du nord et en Asie. Dès le 18ème siècle, il a été introduit en Amérique, en particulier en Californie. Il ne vit que dans les déserts chauds et s'étale entre les parallèles Nord 9°18' (Cameroun) à 39°44' (Elche en Espagne).

Les plantations les plus récentes et à faible échelle se situent en Argentine, Brésil, Pérou, Australie et au Niger (Jahiel, 1996), Mali, et Sénégal.

➤ Répartition en Algérie

Le palmier dattier se rencontre dans plusieurs oasis réparties sur tout le sud dupays où le climat est chaud et sec. Sa culture s'étend depuis la frontière marocaine (Ouest) jusqu'à la frontière Tuniso- libyenne (Est), et depuis l'Atlas saharien jusqu'à Reggane à l'Ouest, Tamanrasset au centre et Djanet à l'Est.

Les principales régions phoenicicoles [Figure 4] sont:

✓ A l'Est : les Zibans (Biskra), l'Oued Rhir (entre Ouargla et Touggourt), l'Oued Souf, la cuvette de Ouargla et le M'zab (Ghardaïa). Ces palmeraies sont constituées principalement de Deglet Nour, cultivar à très haute valeur commerciale.

- ✓ A l'Ouest : la Saoura (Beni Abbes), le Touat (Adrar), le Gourara (Timimoun), le Tidikelt (Reggane) et El Goléa. Ces palmeraies comportent un verger très diversifié. Ces cultivars produisent des dattes, de qualité commerciale très faible.

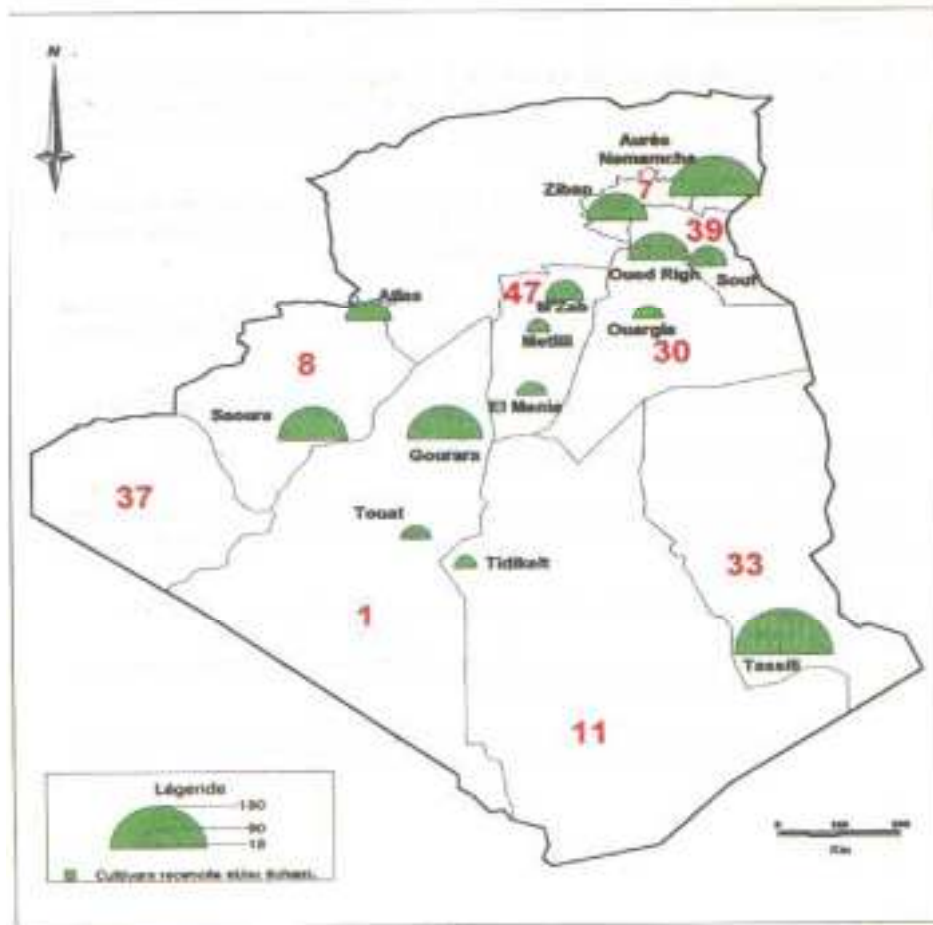


Figure 4. Distribution du palmier dattier en Algérie (Hannachi *et al.*, 1998).

1.5. Stades de développement du fruit du palmier dattier

La datté passe par cinq grands stades de maturation (Ahmed *et al.*, 1995; Al-Shahib et Marshall, 2003 ; Zaid, 1999).

- Hababouk:** Ce stade commence juste après la fécondation et dure environ cinq semaines.
- Kimri:** Durant ce stade la datté se caractérise par une couleur verte, un grossissement rapide du fruit, une augmentation de la concentration en tanins et en amidon.
- Khalal:** La couleur du fruit passe du vert au jaune clair, puis vire au jaune, au rose ou rouge selon les variétés. Cette phase est marquée par une augmentation rapide de la teneur en sucres totaux.

•**Routab:** La couleur jaune ou rouge du stade khalal passe au foncée ou au noir. Ce stade se caractérise par l'augmentation de la teneur des monosaccharides et l'insolubilisation des tanins.

•**Tamr:** Le fruit perd beaucoup d'eau, ce qui donne un rapport sucre/eau élevé [figure 5].



Figure 5. Les différents stades d'évolution de la datte de gauche à droite (Baliga *et al.*, 2011).

1.6. Compositions biochimiques de la datte

Le palmier dattier se compose de :

1.6.1. Eau

D'une manière générale, la teneur moyenne en eau varie de 10 à 40% du poids frais (Estanove., 1990).

1.6.2. Sucres

Leurs teneurs sont très variables et dépendent de la variété et du climat. Ils sont entre 60 et 80% du poids de la pulpe fraîche (Siboukeur., 1997).

1.6.3. Protéines et acides gras

La datte renferme une faible quantité de protéines et de lipides. Il est en général de l'ordre de 1,75% (Abou-Zeid *et al.*, 1991) et de 1,9% du poids frais.

1.6.4. Minéraux et vitamines

Selon (Acourene *et al.*, 2001), la datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux et de vitamines du groupe B [Tableau 1].

Tableau 1. Compositions minérales et vitaminiques des dattes (Al Farsi et Lee., 2008)

Minéraux	Teneur en mg/100	Vitamines	teneur en µg/100 g
Mg	31,0- 150	A (Rétinol)	3,0-44,7
Na	1,00- 261	B1 (Thiamine)	50-120
Ca	5,00- 206	B2 (Riboflavine)	60-160
P	35,0- 74	B3 (Niacine)	1274-1610
K	345,0- 1287	B6 (Pyridoxale)	165-249
Mn	0,01- 0,4	B9 (Folate)	39-65
Fe	0,10- 1,5	(Acide ascorbique)	400-16000
Zn	0,02- 0,6		
Cu	0,01-0,8		
Se	0,24-0,4		

1.6.4. Enzymes

Les enzymes contenues dans les dattes jouent un rôle important dans les processus de la conversion des dattes pendant leur formation et leur maturation. Parmi ces enzymes on trouve :

✓ **Invertase**

Responsable de l'inversion du saccharose et par conséquent la formation d'une texture sirupeuse ou une cristallisation intense des sucres en surface (Akidi., 1985).

✓ **Polygalacturonases et pectinesterases**

Leur activité pectinolytique ne leur permet pas d'être pressentes dans les derniers stades de maturation.

✓ **Polyphénoloxydases et peroxydases**

Les composés phénoliques s'oxydent facilement en quinones en présence d'oxygène sous l'action d'enzymes dont les principales sont les polyphénoloxydases (PPO) et les peroxydases (POD) [figure 6]. Les quinones formées se polymérisent pour donner des composés bruns qui sont responsables du brunissement des dattes (Yahiaoui.,1998).

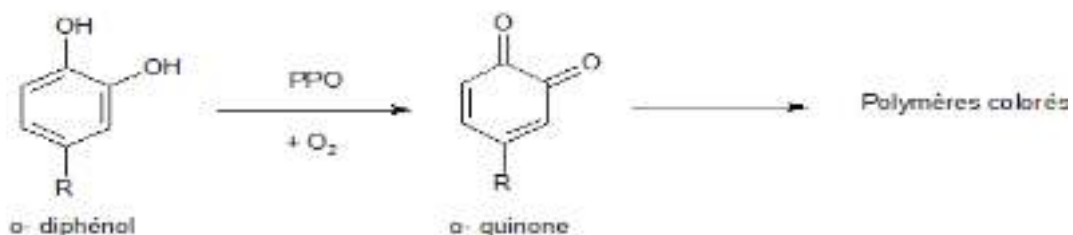


Figure 6. Réaction générale de l'oxydation des polyphénols (Frenot et Vierling.,2001).

1.6.5. Composés Phénoliques

La datte renferme une valeur moyenne de composés phénoliques d'un ordre de 6,73 mg/100 g du poids frais (Al Farsi et Lee, 2008; Mansouri *et al.*, 2005). Parmi ces composés, on trouve :

✓ Acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent l'une des classes principales des métabolites secondaires et dans les dernières années ont été un sujet des études intenses. Ils contiennent un cycle de benzène hydroxylé avec un ou plusieurs groupes carboxyliques attachés directement ou indirectement à lui.

(Mansouri *et al.*, 2005) a analysé le profil phénolique de sept variétés algériennes de dattes et il a observé qu'elles contiennent les acides p-coumariques, féruliques et sinapiques, quelques dérivés d'acide cinnamique. Des études, sur trois variétés de dattes d'Oman, ont montré la présence dans les trois cultivars à la fois d'acide proto-catéchique, d'acide vanillique, d'acide syringique et d'acide férulique. Par contre la présence d'acide gallique, d'acide proto-catechique, d'acide p-hydroxybenzoïque, d'acide vanillique, d'acide caféique, d'acide syringique, d'acide p-coumarique, d'acide férulique, et d'acide o-coumarique est inégalement distribuée dans ces variétés (Al Farsi *et al.*, 2005) [figure 7].

Les études comparatives entre des dattes fraîches et sèches de Fard ont prouvé qu'une augmentation significative dans le contenu phénolique s'ensuit après séchage, probablement dû à la dégradation des tanins et à l'activation des enzymes de dégradation à température élevée (Al Farsi *et al.*, 2005).

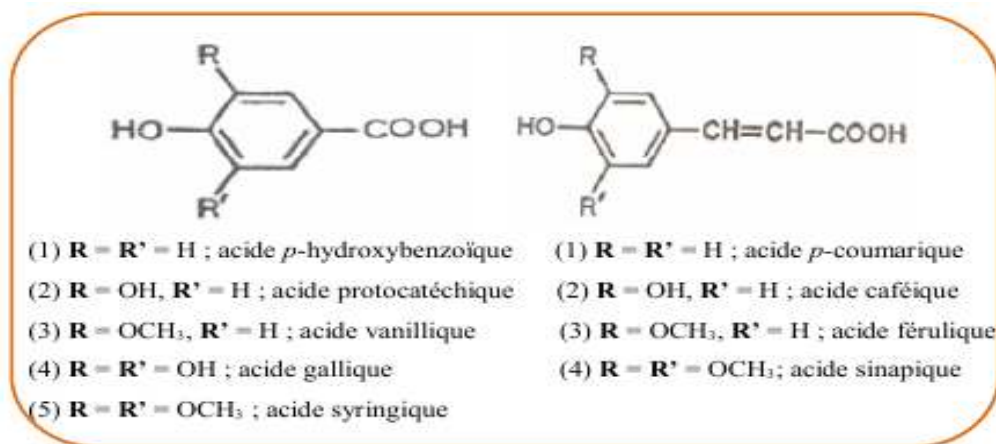


Figure 7. Structures des acides phénoliques présentes dans les dattes (Baliga *et al.*, 2011).

✓ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui même un dérivé

du noyau flavane de base. Ils sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Benguerba., 2008).

Les flavonoïdes présents dans les plantes, possèdent des utilités sanitaires diverses, qui inclut des activités anti-oxydantes, la réduction de certaines maladies chroniques, la prévention de quelques désordres cardio-vasculaires et certains genres de processus cancéreux (Meddleton et Kardasnam, 1993 ; Tapas *et al.*, 2008).

Hong *et al.* (2006) a évalué le contenu en flavonoïdes dans la datte pendant l'étape de Khalal de la maturité et il a identifié 13 flavonoïdes glycosides de lutéoline, quercétine et apigénine [figure 8]. Il a également observé que les formes méthylées et sulfatées de lutéoline et de quercétines ont présentes comme mono-, di- et triglycosylé tandis que l'apigénine est présente seulement comme diglycoside. La quercétine et la lutéoline ont formé principalement les tringleries O-glycosidiques tandis que l'apigénine était présent comme C-glycoside. Aujourd'hui, les dattes ont également une distinction unique d'être la seule nourriture contenant les sulfates flavonoïdes (Hong *et al.*, 2006).

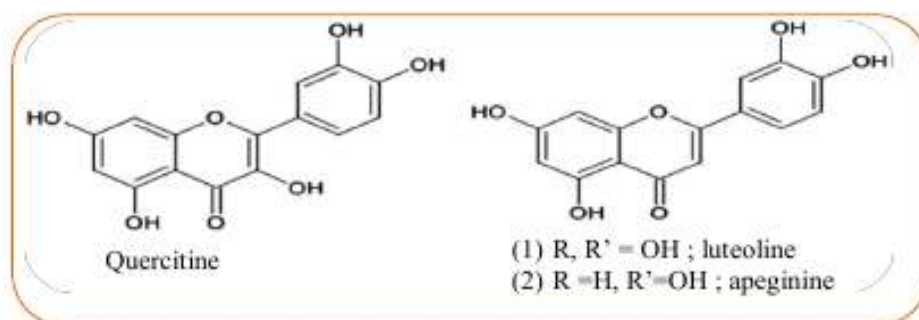


Figure 8. Structures des flavonoïdes présentes dans les dattes (Baliga *et al.*, 2011).

✓ Anthocyanines

Les anthocyanines sont des pigments qui se trouvent au niveau des vacuoles, ayant un caractère hydrophile et peuvent apparaître en rouge, violet ou bleu (Brouillard, 1986 ; Harborne, 1967) [figure 9]. Ils sont largement distribués dans beaucoup de fruits, légumes, grains de céréale et fleurs et ils ont des vertus potentielles (Wang *et al.*, 1997).

Les études effectuées par (Al Farsi *et al.*, 2005) ont montré que parmi les variétés fraîches analysées de dattes, les taux les plus élevés en anthocyanine sont été détectés dans les variétés de Khasab (1,5 mg/100 g), suivi du Fard (0,9 mg/100 g) et de Khalas (0,87 mg/100 g) et qu'une corrélation directe existe entre les taux de l'anthocyanine et la couleur du

fruit. Des anthocyanines ont été détectées seulement dans les dattes fraîches, indiquant qu'elles peuvent être détruites par dessèchement au soleil (Al Farsi *et al.*, 2005).

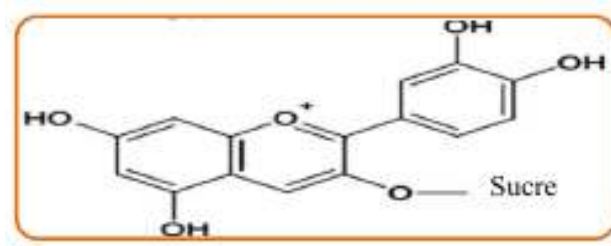


Figure 9. Structures des anthocyanines présentes dans les dattes (Baliga *et al.*, 2011).

1.7. Activités biologiques et pharmacologiques des dattes

1.7.1. Utilisations des dattes en médecine traditionnelle

Les dattes sont traditionnellement employées pour traiter l'hypertension et le diabète (Tahraoui *et al.*, 2007). Le pollen de palmier dattier et des fleurs masculines sont consommés régulièrement pour traiter la débilité sexuelle (Khare, 2007; Selvam, 2008 ; Zaid, 1999). La consommation des dattes renforce le corps, empêche la formation des rides, donne à la peau un regard sain brillant. Les noyaux de dattes présentent des propriétés anti-vieillesse (Bauza, 2002). Le fruit est recommandé aux femmes enceintes et allaitantes (Puri *et al.*, 2000).

La datte bouillie avec le poivre noir est utilisée pour alléger les maux de tête, les toux sèches, la léthargie, la fièvre modérée et la perte d'appétit. Les dattes sèches augmentent l'immunité contre le rhume et soulagent l'asthme (Zaid, 1999).

La consommation régulière de la datte améliore aussi la toux, le rhumatisme, la sensation de brûlure, la néphropathie, la gastropathie, les bronchites (Selvam, 2008). D'autre part, les dattes luttent contre l'anémie et la déminéralisation. Les dattes pilées dans l'eau soignent les hémorroïdes, les constipations et aussi l'ictère (jaunisse). Quant aux diarrhées, elles sont traitées par les dattes vertes tonifiantes. Calmantes sous forme de sirop très concentré, (le robb), elles apaisent et endorment les enfants. Elles sont utilisées contre les maladies nerveuses. En gargarisme, elles soignent les maux de gorge (Benchelah et Maka, 2006).

1.7.2. Activités biologiques et mécanismes d'action

Les études sur les activités biologiques et les mécanismes d'action des dattes sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 2. Propriétés biologiques et pharmacologiques des composés phénoliques (Baliga *et al.*, 2011)

Propriétés pharmacologiques	Observation	Références
Études <i>in vitro</i>		
1. Activité antioxydante	Piéger le radical libre, inhiber la peroxydation lipidique induite par le fer et l'oxydation des protéines.	(Vayalil, 2002 ; Al-Farsi <i>et al.</i> , 2005 ; Mansouri <i>et al.</i> , 2005 ; Abdul et Allaith, 2008 ; Chaira <i>et al.</i> , 2009)
2. Activité Anti-hémolytique	Inhiber l'activité hémolytique du streptolysine O.	(Abuharfeil <i>et al.</i> , 1999)
3. Activité antivirale	Empêcher l'activité lytique de pseudomonas bactériophage ATCC14209-B1 sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	(Jassim et Naji, 2008)
4. Activité antifongique	Activité antifongique contre <i>Candida albicans</i> et <i>C. krusei</i> .	(Shraideh <i>et al.</i> , 1998)
Études <i>in vivo</i>		
1. Activité anti-inflammatoire	Augmenter les taux d'antioxydants du plasma (vitamine C, E, A, β -carotène) et diminuer les peroxydes de lipide. Réduire l'enflure, ESR et le fibrinogène plasmatique.	(Doha et Al-Okbi, 2004)
2. Action surtractus gastro-intestinal	Augmenter le temps de transit gastro-intestinal, réduit l'ulcération gastrique induite par l'éthanol.	(Al Qarawi <i>et al.</i> , 2003 ; 2005).
3. Activité antihyperlipidémique	Réduire les taux plasmatiques de triglycérides, cholestérol total et LDL.	(Salah et Al-Maiman, 2005 ; El-Mougy <i>et al.</i> , 1991)
4. Activité néphroprotecteur	Empêcher des lésions rénales induites par la gentamicine et de réduire les taux de créatinine et d'urée.	(Al Qarawi <i>et al.</i> , 2008)
5. Activité anticancéreuse	Régression de la tumeur Sarcoma-180 chez les souris.	(Ishurda et John, 2005)
6. Activité immunostimulante	Améliorer la médiation cellulaire et l'immunité humorale.	(Puri <i>et al.</i> , 2000)
7. Activité gonadotrope	Augmenter la FSH, LH, testostérone, œstrogènes — augmentation de la spermatogenèse, le nombre de spermatozoïdes, la croissance.	(El-Mougy <i>et al.</i> , 1991 ; Elgasim <i>et al.</i> , 1995 ; Ali <i>et al.</i> , 1999)

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est les feuilles de *palmier dattier*. Elles sont très grandes (5 mètre ou plus de long pour le dattier), pennées et très finement découpées. Chaque année, une nouvelle rosette de feuilles est formée au niveau du bourgeon terminal. Ces feuilles subsistent quelque année puis tombent en laissant leurs cicatrices et leurs faisceaux conducteur qui participent à la construction du stipe.

Notre matériel végétal a été récolté de la wilaya de Khenchela au cours du mois de mai 2021.

Les feuilles ont été séchées dans un endroit sec et bien aéré, à une température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter toute modification ou dégradation des principes actifs et le développement des moisissures.

Après séchage, les feuilles ont été broyées dans un mixeur pour les transformer en poudre. Le broyat obtenu par la suite constitue la matière sèche qui va servir à la préparation de l'extrait méthanolique.

1.1.2. Produits chimiques et appareillages

➤ **Produits chimiques :**

Acide chlorhydrique (HCl), alcool, carbonate de sodium, diméthyle sulfoxyde (DMSO), méthanol, perchlorure de fer (FeCl₃), réactif de Folin Ciocalteu, réactif de stiasny, solution de Fehling, soude (NaOH), 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), NaNO₂.

➤ **Les appareils utilisés** sont : agitateur, autoclave, bain marie, balance de précision, boîtes de Pétri, disque de papier Whatman stérile, étuve, évaporateur réfrigérateur, gélose, pasteur stérile, pied à coulisse, rotatif (rotavapor), spectrophotomètre UV-visible, Vortex.

➤ **Les souches utilisées** : *Escherichia coli*, *Kelbsiella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*.

1.1.3. Préparation de l'extrait

Nous avons préparé l'extrait méthanolique par plusieurs étapes: macération, filtration et évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapor) par le méthanol.

Les feuilles de *Palmier dattier* ont été nettoyées et séchées à température ambiante, ensuite broyées à l'aide d'un mixeur. Pour l'extraction, nous avons utilisé le méthanol et l'eau distillée. 25g de la poudre de la plante sont introduits dans une Erlenmeyer, puis on ajoute 200 ml de méthanol et 50 ml de l'eau distillée. On met sur un agitateur et on laisse la macération se faire pendant 24h (Tadeg *et al.*, 2005). La solution est ensuite filtrée à l'aide de papiers filtre (Wattman N^o1) et répète cette opération 3 fois successivement ensuite jusqu'à obtenir d'extrait méthanolique sec [figure 10].

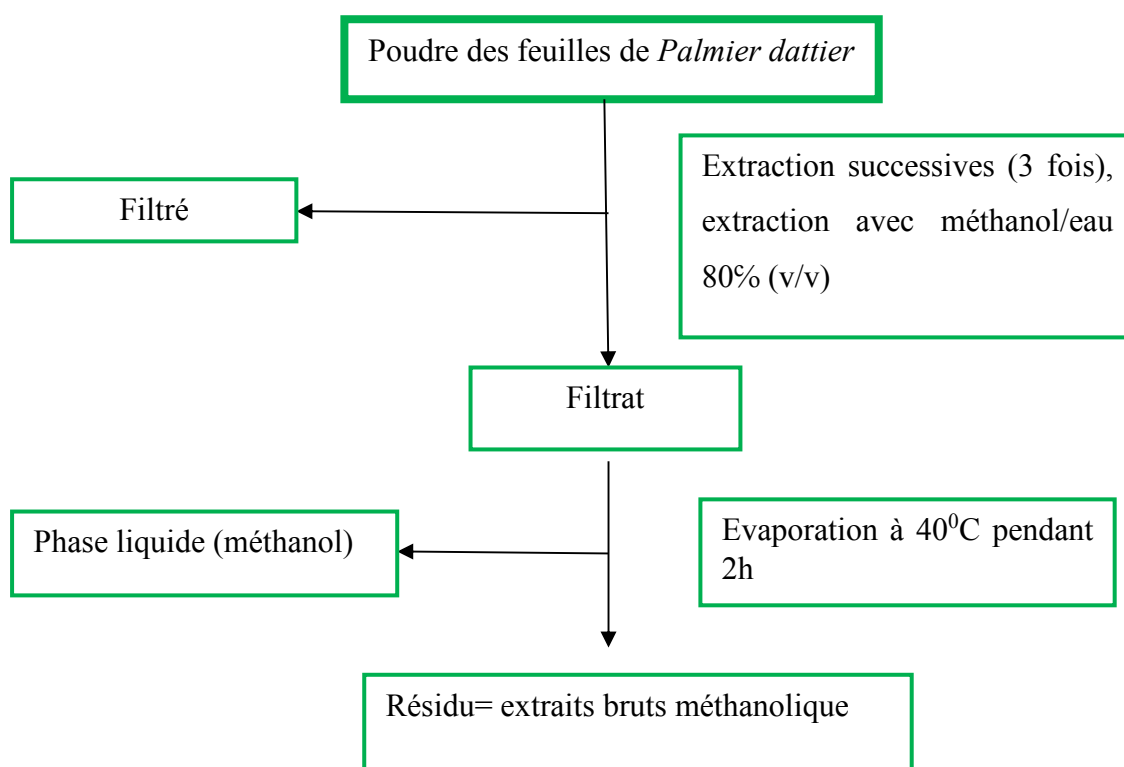


Figure 10 : protocole de préparation de l'extrait méthanolique des feuilles de *palmier dattier* (Tadeg *et al.*, 2005).

1.1.4. Rendement de l'extrait

Après l'extraction, la mesure d'un rendement de l'extrait est l'étape la plus importante pour savoir la quantité et le pourcentage d'extrait obtenus par cette méthode, ce rendement est calculé en comparant le poids de l'extrait après l'évaporation avec son poids initial, par la formule suivante :

$$R (\% \text{ MS}) = (M_{\text{ex}} / M_{\text{mv}}) * 100$$

Où : **R** : le rendement en % ; **M_{ex}** : la masse de l'extrait sec ; **M_{mv}** : la masse de la matière végétale sèche.

1.2. Méthodologie

1.2.1. Screening phytochimique qualitative

1.2.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes

On met 3 g de la poudre avec 75 ml d'eau distillée dans une fiole de 100 ml. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes. On filtre et on laisse refroidir (Mbodj, 2003).

- **Coloration en milieu alcalin**

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun. A 2 ml de l'extrait, on ajoute quelques millilitres de soude au 1/10 dans un tube à essai. On a eu une coloration jaune orangé, donc le test est positif (Mbodj, 2003).

- **Coloration par le perchlorure de fer (FeCl₃)**

Les flavonoïdes donnent des colorations variées avec des diluées de FeCl₃. A 2 ml de solution extractive on ajoute 2 à 3 gouttes d'une solution de FeCl₃ diluée à 2%. L'apparition d'une coloration verdâtre, indique que le test est positif (Mbodj, 2003).

- **Réaction de cyanidine**

En solution alcoolique, en présence d'hydrogène naissant, produit *in situ* par action de chlorhydrique sur des magnésiums. Les flavonoïdes donnent des colorations variées allant du rouge-oranger au violet. On introduit dans un tube 2ml de l'extrait. On ajoute 2ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 96° : 2 volume ; eau : 2 volume ; HCl : 1 volume).

Si la coloration orange, puis violette, donc la réaction est positive (Mbodj, 2003).

1.2.1.2. Mise en évidence des tannins

Dans un Erlenmeyer, disperser 5g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15mn, filtrer et compléter le filtrat à 100ml avec l'eau distillée. On prend 5 ml de l'infusé, au quelle on ajoute goutte à goutte, 1 ml d'une solution de Chlorure ferrique (FeCl₃) à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu noir indique la présence des tanins (Edeoga1 *et al.*, 2005).

- **Tanins catéchiques**

A 5 ml de solution à 5%, on ajoute 5 ml d'HCl concentré. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 min puis on filtre sur papier filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge (Edeoga1 *et al.*, 2005).

- **Tanins galliques : réaction de stiasny**

A 30 ml d'une solution extractive à 5% de la solution préparé en précédant, on ajoute 15 ml de réactif de stiasny (10 ml de formol à 40% et 5 ml de l'acide chlorhydrique HCl concentré), puis on chauffe au bain-marie à 90°C pendant 15mn environ. Après filtration, le filtrat est saturé par 5g d'acétate de sodium. On ajoute alors 1ml goutte à goutte d'une solution de FeCl₃ (à 1%) l'observation d'une teinte bleu noire montre la présence de tanins galliques non précipité par réactif de stiasny (Edeoga1 *et al.*, 2005).

1.2.1.3. Mise en évidence des saponosides

On porte à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un Erlenmeyer de 250 ml puis on ajoute 1 g de la poudre des feuilles de palmier dattier. Ensuite, il faut maintenir le mélange à ébullition pendant 15 mn. Après filtration, ajuster le filtrat à 100 ml.

On remplit 1ml du filtrat (à 1%) préparé dans un tube à essai et ajuster le volume à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, agiter les tubes à essai verticalement, laisser reposer pendant 15 mn. L'apparition d'une mousse qui dure quelque instant indique la présence des saponosides (karumi *et al.*, 2004).

1.2.1.4. Mise en évidence des mucilages

On introduit 1 ml du décocté (utilisé dans caractérisation des tannins) à 10% dans un tube à essais et on ajoute 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux dans le mélange indique la présence de mucilages (Karumi *et al.*, 2004).

1.2.1.5. Test du sucre réducteur

A 1ml d'extrait, on ajoute 2 ml de solution de Fehling. Les tubes sont ensuite incubés au bain marie pendant 5 à 8 min. Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique (Cai *et al.*, 2011).

1.2.2. Etude quantitative

1.2.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux (PPT) dans les extraits de feuilles de Palmier dattier est réalisé par une méthode basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) décrite par (Velioglu *et al.*, 1998). Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phospho

tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phospho molybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968).

La coloration bleue produite possède une absorption maximale à 765 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques.

➤ Mode opératoire

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante. On mélange 200 μ l de chaque concentration de l'extrait avec 1ml de FCR (dilué 10 fois), après une agitation et incubation pendant 4 min à l'obscurité et à température ambiante, on ajoute 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium ($NaCO_3$) à 7.5%. L'ensemble est agité et incubé pendant 30min.

La lecture est effectuée contre un blanc (préparé dans les mêmes conditions de l'échantillon) à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm.

A partir d'une solution méthanolique mère de $C_1=10$ mg/ml de l'extrait, les dilutions suivantes ont été préparées : $C_2= 6$ mg/ml, $C_3= 4$ mg/ml, $C_4=2$ mg/ml, $C_5= 1$ mg/ml.

Les concentrations de PPT contenus dans les extraits des feuilles de dattes sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard (4-40 μ g/ml) dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 100 gramme de matière sèche du fruit (mg EAG/100 g MS).

1.2.2.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

Mettre 500 μ l de chaque concentration d'extrait des feuilles de *Palmier dattier* dans un tube à essai; Ajouter 1500 μ l de l'eau distillé. Ensuite on ajoute 150 μ l de $NaNO_2$. Après

5min, 150 μ l de chlorure d'aluminium (AlCl_3) est ajouté puis, on ajoute 150 μ l d'hydroxyde de sodium (NaOH). L'ensemble est agité dans un vortex pendant toute l'opération.

Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 510 nm.

Le blanc est représenté par le méthanol additionné aux mêmes conditions.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de feuilles de dattes sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/ 100g de MS.

1.2.3. Activités biologiques

1.2.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante

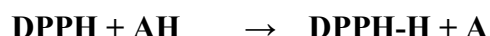
L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode du piégeage radical DPPH.

- **Test de l'activité antiradicalaire (Test au DPPH)**

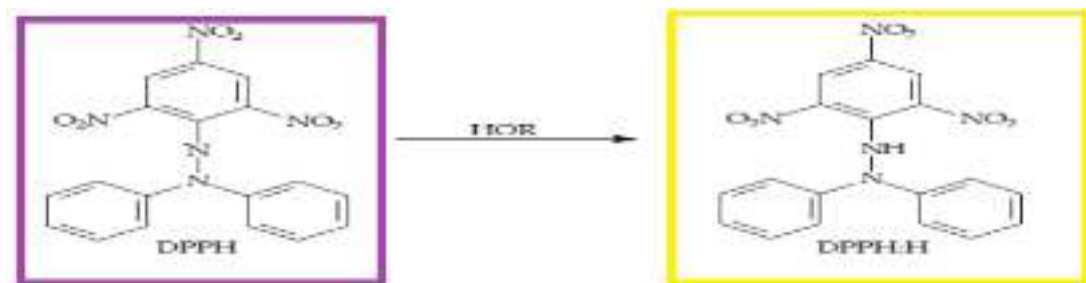
L'activité antiradicalaire a été évaluée par la méthode décrite par (Masuda *et al.*, 1999).

➤ **Principe**

Le Diphényle picryl-hydrazyl (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration, l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).



Où **AH** est un composé capable de céder un H au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm [figure 11].



2,2-diphényl 1- picrylhydrazyl
(Violet)

2,2-diphényl 1- picrylhydrazine
(Jaune)

Figure 11 : Forme libre et réduite du DPPH (Mohammedi, 2006).

➤ Mode opératoire

A partir d'une solution méthanolique mère de C1= 10mg/ml de l'extrait, les dilutions suivantes ont été préparées : C2= 5mg/ml, C3= 4mg/ml, C4= 3mg/ml, C5= 2mg/ml, C6= 1mg/ml.

A chaque volume de 1,5ml de la solution méthanolique de DPPH, un volume de 15µl de chaque concentration préparé de l'extrait est ajouté. Après agitation et incubation à la température ambiante pendant 15min, les densités optiques des mélanges réactionnels ont été mesurées par le spectrophotomètre à 517nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par le méthanol.

L'activité anti-radicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition (IC₅₀) grâce à la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition\%} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs éch})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Avec **Abs contrôle** : L'absorbance de DPPH seul ;

Abs échantillon : L'absorbance de DPPH+ l'extrait.

La concentration effective IC₅₀ est déterminée. Elle correspond à la réduction de 50% de l'activité du DPPH dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydant est d'autant plus élevée que la IC₅₀ est petite.

1.2.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

➤ Principe

La technique la plus utilisée est de diffusion en milieux gélosés sur les boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques décrite par (Bendif, 2017).

Cette technique repose sur la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certains temps de contact entre le produit et le micro-organisme cible (Heni, 2016).

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24h d'incubation à la température adéquate (Bouhdid *et al.*, 2006).

➤ **Préparation des milieux de culture**

- ✓ **Souches utilisées :** Les espèces bactériennes employées sont : (*Escherichia coli*, *Kelbsiella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) repiquées par la méthode des stries sur gélose Muller-Hinton.

La gélose de Muller-Hinton préparer dans le même jour (annexe 2) prête à l'usage est coulée dans les boites de pétri stériles. Puis incubées à 37⁰C pendant 24h afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

A l'aide d'un inoculateur prends quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Elle est mise dans 10 ml d'eau physiologique stérile de sel à 0.9⁰/_o (NaCl).

- ✓ **Préparation des dilutions d'extrait de feuilles de datte**

Notre extrait méthanolique (feuille de palmier dattier) a été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations : 7.5mg/ml, 5mg/ml, 2.5mg/ml.

- ✓ **Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum. Cette opération se fait sur des boites contenant le milieu gélosé Muller-Hinton bien séché.

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement et en tournant sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum. Il faut faire un étalement uniforme, et frotter l'écouvillon sur lui-même.

L'ensemencement est finit, en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Déposer à l'aide d'une pince stérile les disques, imprégné de l'extrait végétal, sur la surface de la Muller-Hinton. Placer les boites de pétri à basse température (4⁰C) pendant 15 à 30 min afin de permettre au extrait de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier (Braz et Mohamed, 2018).

Retirer les boites du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37⁰C) pendent 24H. Après 24H d'incubation, mesurer à l'aide d'un pied à coulisse. Cette mesure est réalisée au verso des boites de pétri. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié (Braz et Mohamed, 2018).

1. Résultats et discussion

1.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé selon la formule située dans le matériel et méthode :

$$R (\% \text{ MS}) = (M_{\text{ex}} / M_{\text{mv}}) * 100$$

$$R (\% \text{ MS}) = (6.78 / 25) * 100$$

$$R (\% \text{ MS}) = 27.12$$

Le rendement d'extraction méthanolique trouvé dans notre recherche est supérieur à celle trouvée de pollen du palmier dattier déterminé par (Benzahia H., *et al.*, 2018) qui est de 19.13%.

D'après (Lee *et al.*, 2003) et (Mohammedi., 2013) le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme).

1.2. Analyse phytochimique qualitative

1.2.1. Screening phytochimique

La phytochimie qualitative de la plante étudiée est basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur l'extraits reconstitués à partir de la poudre de l'échantillon végétal à chaque concentration génère pour une première estimation des données préliminaires sur les constituants des extraits. Le résultat de ce criblage phytochimique est résumé dans le tableau 3. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolite secondaire.

Tableau 3. Screening phytochimique de la plante.

Composés	Feuilles de <i>Phoenix dactylifera</i> L.
Flavonoïdes	+
Tannins	+
Saponosides	+
Mucilages	+
Sucre réducteur	+

+ : Présence du composés testé.



Figure 12 : Mise en évidence des flavonoïdes.



Figure 13 : Mise en évidence des tannins.



Figure 14 : Mise en évidence des saponosides.



Figure 15 : Mise en évidence des mucilages.

L'observation des colorations jaune orangé, verdâtre et la coloration orange (selon les réactif) montre la présence des flavonoïdes (figure 12).

L'apparition de coloration bleu noire ou de précipité rouge indique la présence des tannins (figure 13).

La mousse observé dans la figure 14 révèle la présence des saponosides.

L'obtention d'un précipité floconneux dans la figure 15, indique la présence de mucilages.



Figure 16 : Mise en évidence des sucres réducteurs.

Test du sucre réducteur est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique (figure 16).

Les travaux de (Laouni S., 2014) révèlent la présence des groupes phytochimiques (flavonoïdes, saponosides et les tannins) rencontrés au niveau des extraits de *Phoenix dactylifera* L.

1.3. Analyse phytochimique quantitative

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV-visible, ont été utilisées pour évaluer la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale.

1.3.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

La spectrophotométrie a permis de quantifier le taux des polyphénols dans l'extrait méthanolique des feuilles de datte. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations, la courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations (figure 17).

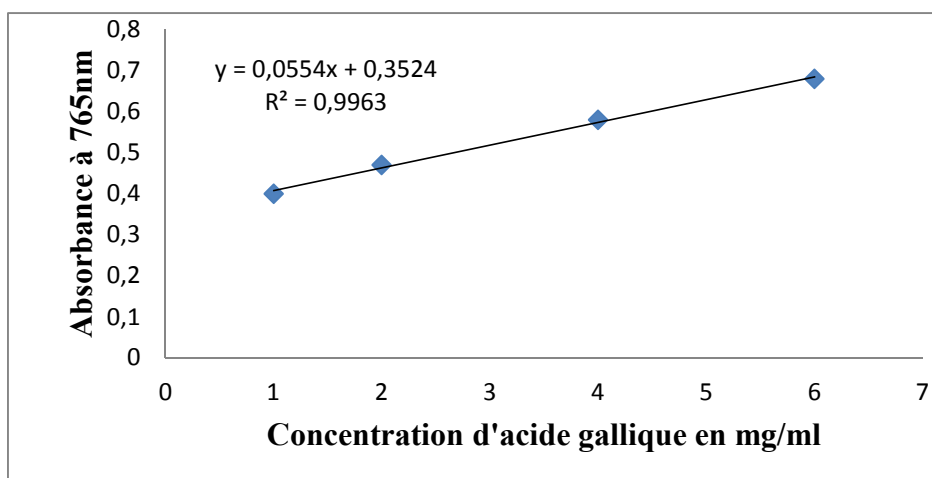


Figure 17 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

L'analyse de la figure 17 indique que les teneurs en polyphénols totaux ont décrit une évolution croissante pour toutes les concentrations, tandis que la concentration qui donne une valeur plus supérieure que d'autre c'est le plus élevé (627.8mg EAG/100g de MS). La capacité d'adsorption des feuilles des palmiers dattiers augmente avec l'augmentation de la concentration.

Nos résultats sont semblables au résultat trouvé par (Saffidine *et al.*, 2015) sur la plante *Artemisia Herba Alba* par l'extrait méthanolique.

Les résultats de cette recherche sont nettement plus supérieurs au résultat trouvé par (Mansouri *et al.*, 2005) qui est de 6.73 mg EAG/100g de MF pour un extrait méthanolique du fruit de datte et inférieurs au résultat de (Wu.,2004) qui a trouvé une teneur de 661 mg EAG/100g de MF.

Dans une autre étude réalisée par (Dhaouadi *et al.*, 2011), la teneur en polyphenols est de 548 mg EAG/100g de sirop de datte pour l'extrait méthanolique de sirop de la variété deglet nour tunisienne.

Les différentes teneurs en PPT résultent de l'effet d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont :

-Les facteurs climatiques et environnementaux : la lumière, les précipitations, la topographie, la saison et le type de sols (Harris., 1977).

-Le patrimoine génétique : la concentration des polyphénols est très variable d'une espèce à une autre et d'une variété à autre et diminue régulièrement durant la maturation ainsi que la période de récolte et le stockage par différentes voies du brunissement (Macheix *et al.*, 1990).

-La méthode d'extraction et la méthode de quantification (Lee *et al.*, 2003).

En comparant les teneurs en polyphenols de notre échantillon à celles d'autres fruits qui sont de 0.273, 0.2, 0.425 ,0.132 ,0.217 % du poids frais pour le kiwi, la prune, la pamplemousse , la pomme et l'orange respectivement, on conclut que les feuilles de palmier dattier sont une bonne source de polyphénols naturels (Al Farsi *et al.*, 2005).

Toutefois, les résultats du dosage des composés phénoliques n'indiquent pas les valeurs exactes des teneurs en polyphénols, puisque malgré sa grande sensibilité, la méthode Folin-Ciocalteu peut présenter des problèmes d'interférence, en effet le réactif Folin- Ciocalteu peut réagir avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane), les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose (Boizot et Charpentier., 2006).

1.3.2. Teneur en flavonoïdes

Après traçage de la courbe d'étalonnage par mesure d'absorbance de différentes concentrations de la quercétine, on détermine les teneurs en flavonoïdes des différents

concentration d'extrait (Figure 18).

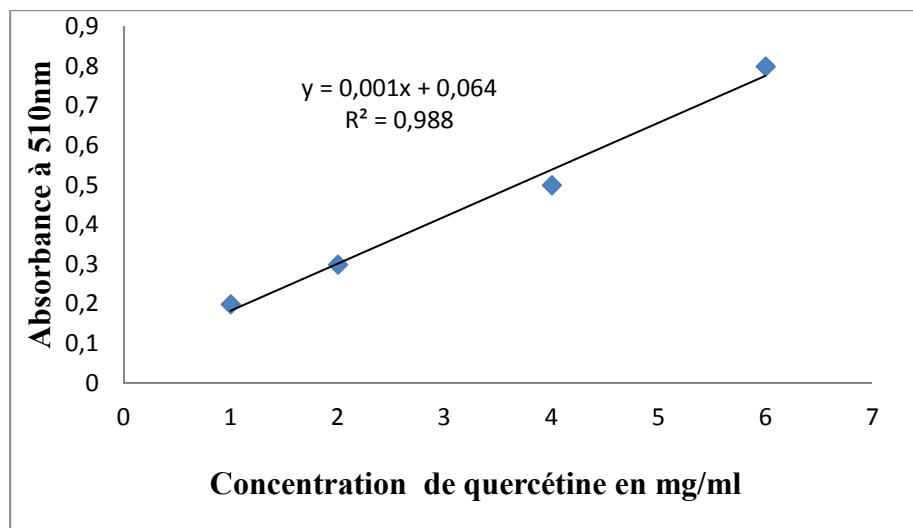


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

L'estimation quantitative des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium et a montré que notre échantillon est riche en flavonoïdes (augmente avec l'augmentation de la concentration).

Les concentrations des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique est de 244mg EQ/100g MS.

Nos valeurs sont plus supérieures à la valeur trouvée par (Mansouri *et al.*, 2005) qui est de 0.136 mg EQ/ 100g de MF pour l'extrait méthanolique du fruit de datte. (Chaira *et al.*, 2009) ont trouvé une valeur plus inférieure de notre résultat avec une teneur en flavonoïde de 54.46 mg EQ/ 100g de MF pour l'extrait méthanolique de datte Deglet-Nour tuisienne.

La teneur en flavonoïdes des feuilles est supérieure à celles de quelques fruits, données par (Haddadi ., 2005) : 1,98 ; 3,22 ; 7,12 ; 2,10 et 17,53⁰/₀ du poids frais pour la tomate, la mandarine, le pamplemousse, la pomme et la fraise respectivement.

L'extraction des composés phénoliques à partir des plantes est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction employée, la durée et les conditions de stockage ainsi que la présence des substances interférentes, différents solvants peuvent être utilisés tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone, le propanol, l'acétate d'éthyle, l'eau.....etc (Nacz *et al.*, 2006).

L'utilisation de solvants à polarité croissante permet de séparer les composés des extraits selon leur degré de solubilité et donc permet de séparer les flavonoïdes selon leurs degrés de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et triglycosylés) (Ciulei., 1982).

La méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (Lee *et al.*, 2003).

Les composés contenus dans les différents extraits et qui peuvent être dissouts dans les solvants polaires sont : les flavonoïdes et coumarines glycosylés, les flavonoïdes sulfatés, les acides phénols et les tanins alors qu'avec les solvants apolaires on obtient les flavonoïdes aglycone hautement méthoxylés, les terpènes, les lipides et les acides gras (Ciulei., 1982).

En revanche les teneurs en flavonoïdes sont faibles devant ceux des polyphénols totaux.

1.4. Evaluation des activités biologiques

1.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des feuilles de datte consiste à mesurer sa capacité à piéger, ralentir ou inhiber la création des radicaux libres. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec une substance qui peut donner un atome d'hydrogène, cela donne lieu à la forme réduite avec une perte de la couleur violette. La décoloration sera directement proportionnelle au nombre de protons captés et peut être suivie par la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel à 517 nm. Elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH et fournit donc un moyen pratique pour mesurer le pouvoir antioxydant de l'extrait étudié.

L'activité antiradicalaire de notre extrait est exprimée en pourcentage d'inhibition% déterminée dans le tableau suivante.

Tableau 4 : Valeurs du pourcentage d'inhibition du DPPH pour l'extrait.

Concentration (mg/ml)	pourcentage d'inhibition%
1	89.35
2	84.42
3	85.83
4	85.83
5	70.45

L'extrait méthanolique des feuilles de datte manifeste la grande capacité anti-radicalaire avec un pourcentage d'inhibition de 89.35% à 1mg/ml due à sa teneur élevée en polyphénols.

Les résultats de l'analyse d'effet de piégeage du radical DPPH sont représentés dans la figure 19.

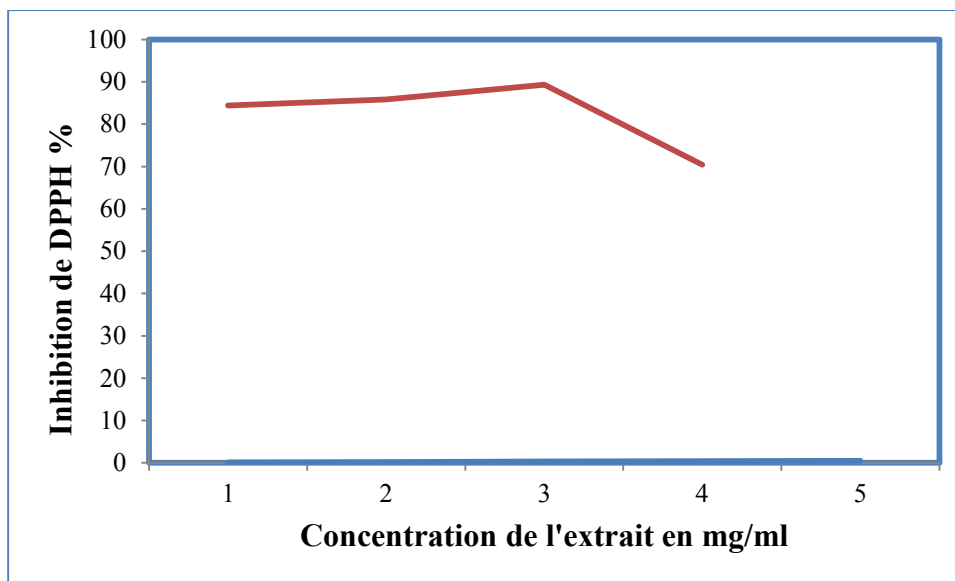


Figure 19 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique.

La capacité antioxydante d'extrait de différentes concentrations a été déterminée à partir des IC_{50} , c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur d' IC_{50} est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande (Mansouri *et al.*, 2005).

Une étude menée par (Liolios *et al.*, 2009) sur une autre espèce de dattes *Phoenix theophrasti* a montré un pourcentage d'inhibition de 17 $\mu\text{g/ml}$ lorsque l'extraction a été menée par le méthanol, cette valeur est nettement inférieure à celle trouvée dans notre étude.

(Mansouri *et al.*, 2005) trouvent des IC_{50} de 243.6 $\mu\text{g/ml}$ dans la variété *Phoenix theophrasti* qui sont plus supérieurs à notre résultat.

(Trichine., 2016) trouve des IC_{50} des fruits de datte de 16.92 et 8.29 $\mu\text{g/ml}$. Ces valeurs sont inférieures à la valeur trouvée dans cette étude.

Cette différence peut être expliquée par le fait qu'il s'agit non seulement de deux espèces différentes mais aussi de l'action combinée des différents composés à activité antiradicalaire qu'elles peuvent contenir (les polyphénols glycosides, les peptides, les acides organiques...).

Nottions que le pouvoir antioxydant d'un composé chimique n'est pas nécessairement égal à sa capacité de réduire le DPPH. Cela peut être expliqué par le fait qu'ils ne contiennent pas d'acides phénols, des acide hydroxycinamiques ou des flavonoïdes monoglycosylés et diglycosylés qui sont les plus susceptibles du pouvoir antiradicalaire de la datte

(Sundus., 2009).

1.4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne c'est une activité bactérienne au cours de laquelle il ne se manifeste aucune destruction bactérienne, on remarque une inhibition de la croissance bactérienne, croissance qui reprend dès que la substance disparaît. Cette activité se manifeste par une accélération de la mort des bactéries aux concentrations d'extraits.

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles de palmier dattier vis-à-vis des souches bactérienne, qui se différencient par des enveloppes extérieures de natures différente.

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien d'extrait de feuille de palmier dattier par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller-Hinton).

L'activité antibactérienne a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait avec des différentes concentrations vis-à-vis de quatre bactéries après 24h d'incubation (Tableau 5).

Tableau 5: Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (D).

Inhibition	Transcription	Sensibilité
$D < 8\text{mm}$	-	Résistante
$9\text{mm} < D < 14\text{mm}$	+	Sensible
$15\text{mm} < D < 19\text{mm}$	++	Assez sensible
$D > 20\text{mm}$	+++	Très sensible

Les résultats du test de sensibilité microbienne à l'extrait sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) d'extrait méthanolique

Concentration (mg/ml) Les souches	Solution mère	Méthanol	2.5	5	7.5
<i>Escherichia coli</i>	6.58±0.32	6.97±0.47	6.76±0.13	6.14±0.27	6.47±0.37
<i>Kelbsiella sp</i>	7.8±0.55	8.23±0.24	8.69±0.05	7.9±0.37	7.76±0.23
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.84±1.09	8.89±0.46	7.01±0.12	7.36±0.61	8.31±1.35
<i>Bacillus subtilis</i>	9.56±0.72	7.96±1.14	8.05±0.69	8.57±0.6	9.62±0.28

L'effet inhibiteur de la croissance du germe *E.coli* est donné par l'extrait méthanolique du feuilles de datte pour les concentrations 2.5mg/ml, 5mg/ml , 7.5mg/ml avec respectivement des diamètres de zone d'inhibition de 6.76, 6.14, 6.47m. (Garba *et al.*, 2012) ont trouvés des zones d'inhibition allantde 9à 15mm pour *Escherichia coli*.

La souche *Staphylococcus aureus* est sensible à l'extrait des feuilles de datte avec des diamètres de la zone d'inhibition de 7.01, 7.36 et8.31mm respectivement pour les concentrations de l'extrait de 2.5, 5, 7.5mg/ml. (Shafi Bhat et Aldaihan.,2012) signalent des diamètres de l'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* de 12mm et de 11mm d'*Escherichia coli*.

D'après le tableau 8, la souche *Bacillus subtilises* la plus sensible à l'extrait des feuilles de *Phoenix dactylefira* L. avec diamètre de la zone d'inhibition de 9.62mm pour la concentration 7.5mg/ml.

(Bouhlali *et al.*,2016), sur sept cultivars marocaines, rapportent que les diamètres d'inhibition de la croissance des souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* varient de 7.66 ±0.44 à 14.66 ±0.44mm.

(Ayachi et al.,2009) ont démontré que les extraits méthanoliques de Deglet-Nour possèdent un effet antibactérien modéré contre *Salmonilla typhimirium* et *Escherichia coli*, avec des diamètres des zones d'inhibition de 8.5 et 9.5mm respectivement.

La méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des micro-organismes ciblés sont des facteurs pouvant largement influencer l'activité antibactérienne (Cowan., 1999).

En 1999, Cowan rapporte que les différentes classes de polyphénols, essentiellement les tannins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes

en fonction du site, la conformation spatiale et le nombre de groupement hydroxyles, les flavonoïdes bloquent la synthèse des acides nucléiques et inhibent les différentes fonctions de la membrane cytoplasmique en réduisant la fluidité de la couche interne et externe.

L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne était étudiée par (Ketrzyn *et al.*, 2007), qui ont démontré que de nombreux composés flavoniques sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et à gram positif (*Staphylococcus aureus*).

En effet, l'activité d'extrait méthanolique des feuilles de datte sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* peut être due aux flavonoïdes qui possèdent une activité antibactérienne selon (Bruneton.,1999).

Conclusion

L'industrie pharmaceutique utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et les chercheurs trouvent chez les plantes des nouvelles molécules actives, ou des matières premières pour la semi-synthèse. Parmi ces molécules, les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature. Ils sont présents dans toutes les parties végétales supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Les polyphénols végétaux, en particulier les flavonoïdes et les anthocyanes, sont largement utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoire, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires...

Parmi les plantes les plus utiles à l'homme, le palmier dattier, qu'est l'un des arbres fruitiers le plus anciennement cultivé reconnu par la taxonomie végétale comme étant porteurs du nom *Phoenix dactylifera* L.

Deux aspects principaux sont visés par ce travail, le premier était d'évaluer les teneurs par spectrophotométrie de certaines molécules bioactives telles que les polyphénols totaux, les flavonoïdes, flavones et flavonols.

Le second de nature biologique qui a été mis en évidence par deux test biologiques différents; un test antioxydant et test antibactérien.

Globalement, la plante sélectionnée dans ce travail (feuilles de *Palmier dattier*) contient des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation des de ces principes actifs. Elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

Les résultats obtenus dans les dosages des composés phénoliques montrent que la plus part des classes de ces composés (les flavonoïdes, les tannins et les saponosides) existent en concentration considérable dans les feuilles de Palmier dattier, ce qui confirme leurs pouvoir antioxydante.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait a été réalisée par la méthode de DPPH. L'activité antibactérienne à été effectué par la méthode de Muller-Hinton.

Les résultats obtenus des activités antioxydants sont très intéressantes de l'extrait des feuilles de palmier dattier. Ces effets sont proportionnels à la concentration de l'extrait, plus en augment la concentration plus le pourcentage d'activité est importante.

La mise en évidence des activités biologiques dans les extraits de dattes a révélé une résistance de certaines souches bactériennes et paradoxalement une forte sensibilité d'autres souches en occurrence *Bacillus subtilises* qui, généralement, manifeste une résistance aux extraits de plantes. Ce résultat explique la présence de substances douées d'activité antibiotique.

Selon les résultats de l'analyse phytochimique de l'extrait testé, ces activités (antioxydante et antibactérienne) sont probablement liées à la richesse de cette plante en polyphénols et en flavonoïdes.

Références bibliographiques

A

Abdul A., Allaith A., 2008. Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: pp1033-1040.

Abou-Zeid A., Nabeih A., Baghlaf O., 1991. The formation of oxytetracycline in a date coat medium. *Bioresource technologie*, 4: p37.

Abuharfeil NM., Saeb ES., Yousef M., Abdul-Karim JS., 1999. Effect of date fruits, *Phoenix dactylifera* L., on the hemolytic activity of Streptolysin O. *Pharmaceutical Biology*, 37: pp335-339.

Acourene S., Buelguedj M., Tama M., Taleb B., 2001. Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Zibans. *Recherche Agronomique*, N° 8. Ed. INRAA : PP 9-39.

Ahmed AI., Ahmed AWK., Robinson RK., 1995. Chemical composition of date varieties as influenced by the stage of ripening. *Food Chemistry*, 54: pp305-309.

Akidi MK., Ahmed MA., 1985. Transformation des dattes et des produits celluloses des dattes. Union Arabe des Industries Alimentaires. Irak : 300-303.

Al Farsi M., Alasalvar C., Morris A., Baron M., Shahidi F., 2005. Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: pp7586-7591.

Al Farsi MA., Lee CY., 2008. Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48: pp877-887.

Ali BH., Bashir AK., Al Hadrami G., 1999. Reproductive hormonal status of rats treated with date pits. *Food Chemistry*, 66: pp437-441.

Al-Qarawi AA., Ali BH., Al-Mougy SA., Mousa HM., 2003 .Gastrointestinal transit in mice treated with various extracts of date (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Chemistry Toxicology*, 41(1): 37-39.

Al Qarawi AA., Abdel-Rahman H., Ali BH.,Mousa HM., El-Mougy SA., 2005. The ameliorative effect of dates (*Phoenix dactylifera* L.) on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 98: pp313-317.

Al Qarawi AA., Abdel-Rahman H., MousaHM., Ali BH., El-Mougy SA., 2008. Nephroprotective action of *Phoenix dactylifera* in gentamicin-induced nephrotoxicity. *Pharmaceutical Biology*, 46: pp227-230.

Al-Shahib W., Marshall R., 2003. The fruit of the date palm: Its possible use as the best food for the future. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 54: pp247-259.

Amorsi G., 1975. Le palmier dattier en Algérie, Ed, Tlemcen, 131p.

Arib H., 1998. Isolement et caractérisation des *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* de la région de Beni Abbes. Mémoire de Magister en Microbiologie Appliquée, Université D'ORAN, ORAN : p6.

Ayachi A., Allouni N., Bennoune O., Daas Amieur S., Bouzid W., Djemai Zoughliache S., Boudjelal K. et Abdessemed H., 2009. Antibacterial activity of some fruits ; berries and medicinal herb extracts against poultry strains of Salmonella. *American- Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science*, 6(1) :12-15.

B

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittle Forshing*. 46 (11):1086-1089.

Baliga MS., BaligaBRV.,Kandathil SM., Bhat HP., Vayalil PK., 2011. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International*, 44: pp1812-1822.

- Bauza E.**, 2002. Date palm kernel extract exhibits antiaging properties and significantly reduces skin wrinkles. *International Journal of Tissue Reactions*, 24: pp131-136.
- Belhabib. S.**, 1995. Contribution à l'étude de quelques paramètres biologiques (croissance végétative et fructification) chez deux cultivars (Deglet-Nour et Ghars) du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*. L) dans la région de Oued Righ. Mémoire, Ing, Agro. Batna. 54p.
- Ben Abbes F.**, 2011. Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera* L. ». Thèse de magister. Université Ferhat Abbas-SETIF:p57.
- Ben Aïssa I., Bouarfa S., Perrier A.**, 2008 Utilisation de la mesure thermique du flux de sève pour l'évaluation de la transpiration d'un palmier dattier "Economies d'eau en systèmes irrigués au Maghreb, Mostaganem : Algérie (2008) ;
- Benchelah AC., Maka M.**, 2006. Les dattes, de la préhistoire à nos jours. *Phytothérapie (ethnobotanique) Springer*, 1: 43-47.
- Ben Chennouf A.**, 1971. Le palmier dattier. Station expérimentale d'Ain Ben Naoui. Biskra, 22 p.
- Benguerba A.**, 2008. Etude Phytochimique et de la Phase Butanolique de L'espèce *Inula crithmoides* L. Thèse de magister, Université Mentouri, Constantine : p25.
- Benzahia H., Taibi F.**, 2018. Etude biologique et activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait du pollen de quelque variétés mâles de palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. Thèse de master, Université Mohamed Boudiaf, M'sila : p48.
- Biyiti LF, Meko'o DJL, Tamzic V, Amvam Zollo PH.** Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Pharmaceutical Mediterranean traditional african* 2004; 13: 11-20.
- Boizot N .et Charpentier J P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, N° spécial : 79-83.
- Boudries H., Kefalas P., Hornero-Méndez D.**, 2007. Carotenoid composition of Algerian date varieties (*Phoenix dactylifera*) at different edible maturation stages. *Food Chemistry*, 101: pp1372-1377.

Bougedoura N., 1979. Contribution à la connaissance du palmier dattier. *Phoenix dactylifera* L. j, étude des productions l'axillaires. Thèse de fin de 3ème cycle en science biologique, Université Montpellier II, France.

Bouhlali E., Bammou M., M Sellam K., Benlyas M., Alem C., Filali-Zegzouti Y., 2016. Evaluation of antioxidant, antihemolytic and antibacterial potential of six Moroccan date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. Journal of king Sud University-Science, vol.28 :136-142.

Boulekbache L. (2005). Profil GC-MS des polyphénols d'une plante médicinale : *Eucalyptus globulus*. Mémoire de Magister. Université de Bejaïa. 71p.

Bouna Z.E.A.O. 2002. Contribution à l'étude biosystématique, ethnobotanique, biochimique, alimentaire et diététique de 11 cultivars de dattiers, *Phoenix dactylifera* L., des palmeraies de Mauritanie. Thèse de 3ème cycle, Département de biologie végétale, faculté des sciences et techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 250p.

Brouillard R., 1986. The flavonoids Advances. Research science, 525-538: p26.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e éd.) Tec et Doc, Paris:p1120.

Bruneton J., 2012. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.

C

Castro L. et Freeman B A., 2001. Reaction of peroxyxynitrite with Mn-superoxide dismutase: role of the metal center in decomposition kinetics and nitration. *Journal of biological chemistry* 276 (15):11631-11638.

Chaira N., Smaali MI., Martinez-Tomé M., Mrabet A., Murcia MA., Ferchichi A., 2009. Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water-methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60: pp316-329.

Chelli A., 1996. Etude bio-écologique de la cochenille blanche du palmier dattier *Parlatoria blanchardi* Targ (Hom. Diaspididae). A Biskra et ses ennemis naturels. Mémoire. Ing. INA. El-Harrach, 101 p.

Ciulei J. (1982) Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed. Ministry of Chemical Industry. Romania. 67 p.

Cowan M. M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, vol. 12(4), 564-582.

D

Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barajoun E., Vilanova E., Hamdaoui M. and Fatouch S.(2011) Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J.Agric.Food Chem.* 59:402-406.

Di Mascio P., Murphy ME., Sies H., 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(S): 194-200.

Djerbi M., 1994. Le précis de phoeniculture. Ed. FAO, Rome: pp 52 – 58.

Doha MA., Al-Okbi SY., 2004. In vivo evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of different extracts of date fruits in adjuvant arthritis. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13: 397-402.

Dohou N.,K.Yamin,S.Tahrou, H.L.M.Idrissi, A.Badoc et N. Gmira, 2003.-Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thmelaea lythroides*. Bull.Soc. Pharm.Bordeaux.142,61-78.

E

Edeogal H.O., Okwu D.E. etMbaebie B.O., (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 4 (7) : 685-68.

Elgasim EA., AlyousifYA.,Homeida AM., 1995. Possible hormonal activity of date pits and flesh fed to meat animals. *Food Chemistry*, 52: pp149-150.

El-Houmaizi M. A., 2002. Modélisation de l'architecture du palmier dattier (*phoenix dactylifera* L.) et application à la simulation du bilan radiatif en oasis. Thèse de fin d'étude du troisième cycle, Université Cadi-Ayyad, Marrakech au Maroc;

El-Mougy SA., Abdel-Aziz SA., Al-Shanawany M., Omar A., 1991. The gonadotropic activity of *Palmae* in mature male rats. *Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5: pp156-159.

Estanove P., 1990. Note technique : Valorisation de la datte. In Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. Ed. CIHEAM: pp301-318.

F

Frenot M., Vierling E., 2001. Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant. 2^{ème} Edition. Biosciences et techniques, DOIN. Aquitaine : p301.

G

Garba L., Yusha'u M., Yerima A., 2012. Antibacterial Activity of Ethanol Extract of *Phoenix dactylefira* L. Leave against some Gram Negative Bacterial Isolates. *Greener Journal of Biological Science*. ISSN 2276-7762.

Gilles P., 2000. Cultiver le palmier dattier .Ed. CIRAS : p110.

H

Haddadi H., (2005). Détermination de l'activité antioxydante de quelques fruits. Mémoire de magister. Université de Béjaïa (FSNV), 76 p.

Hannachi S, Benkhalifa A, Khtiri D. et Brac de la Perriere R.A. 1988. Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Commissariat au Développement de l'agriculture des régions Sahariennes (CDARS)- Unité de Recherche sur les Zones Arides (URZA) de l'Université des Sciences et Technologie «Houari Boumediene». République Algérienne, p.225.

Harborne JB., 1967. Comparative Biochemistry of the flavonoids. London: Academic Press. New York: pp1-130.

Harris R S. and Karmas E. (1977). Nutritional evaluation of food processing , 3rdEd. The Avi Publishing company Inc, New York. 612p

Hemingway RW., 1992. Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: L. panto polyphenols: synthesis, properties, significance. Hemingway R W, Laks P. E. New York.

Hong YJ., Tomas-Barberan FA., Kader AA., Mitchell AE., 2006. The flavonoid glycosides and procyanidin composition of Deglet-Noor dates (*Phoenix dactylifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: pp2405-2411.

I

Ishurda O., John FK., 2005. The anti-cancer activity of polysaccharide prepared from Libyan dates (*Phoenix dactylifera* L.). *Carbohydrate Polymers*, 59: pp531-535.

J

Jahiel M., 1996. Phénologie d'un arbre méditerranéen acclimaté en région tropicale. Le dattier au sud du Niger et son appropriation par la société Manga. Thèse. Doct. Université Montpellier II. Sc. Tech. Languedoc., p. 239.

Jassim SAA., Naji MA., 2008. *In vitro* evaluation of the antiviral activity of an extract of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pits on a pseudomonas phage. *Evidencebased complementary and alternative medicine*, 15: pp1-6.

K

Karmakar I, Dolai N, Saha P, Sarkar N, Bala A , Kanti P. Scavenging activity of Curcuma caesia rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental medicine* 2011;11: 221–228.

Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O., (2004). Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*. 4(3):179-182.

Khare CP., 2007. Indian medicinal plants: An illustrated dictionary. Springer Reference.

Kikuchi N., Miki T., 1978. The separation of date (*Phoenix dactylifera*) sterols by liquid chromatography. *Mikro chimica Acta*, 69: pp89-96.

L

Laouini S. 2014. Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L. dans la region de sud d'Algérie (la region d'Oued Souf).Thèse de doctorat. Université Mohamed Khider-Biskra: p74.

Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J et Lee C.Y., (2003).Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*51: 7292-7295.

Liolios CC., Sotiroudis GT., Chinou I., 2008. Fatty acids, sterols, phenols and antioxidant activity of *Phoenix theophrasti* fruits growing in Crete, Greece. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64: pp52-61.

Liolios C.C., Sotiroudis.G.T., Chinou.I. (2009).Fatty acids, sterols,phenols and antioxidant activity of Phoenix theophrasti fruits growing in Crete, Greece.*Plant Foods Hum Nutr.*69:52-61.

M

Macheix J. J., Fleuriet A. and Billot J. (1990). Fruit phenolics .boca raton . CRC Press. 378p.

Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P., 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chem.*, 89 : pp411- 426.

Masuda T., Yonemori S., Oyama Y., Takeda Y., Tanaka T., Andoh T., Shinohara A. et Nakata M., 1999. Evaluation of the antioxidant of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1749–1754.

Mazoyer M., 2002. Larousse agricole, le monde agricole au XXI^{ème} siècle. Ed. MATHILDE MAJOREL: p224.

Mbodj N., (2003). Etude de l'Activité antidiabétique des extraits acetoniques, méthanolique et hesniques de vernonia colorata (willd/drake composées chez des rats wistar, Thèse de docteur en pharmacie, Université Cheikh AntaDiop de Dakar : pp 53.

Meddleton E., Kardasnamı J C., 1993. The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London: 617-652.

Mohammedı Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoıdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaıd Tlemcen, 155p.

Mohammedı Z., 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat, Université Abou BekrBelkaid Tlemcen : pp169.

Munier P., 1973. Le palmier dattier. Ed G-P Maisonneuve, la rose. Paris.

N

Nacz M. and Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. J. Pharm. and Biomed. Anal. 43(2):798.

P

PERRIER DE LA B THIE H. 1933. Biogéographie des palmiers de la région malgache. [Http://www.bibdigital.rjb.csic.es](http://www.bibdigital.rjb.csic.es), séances 25 p 385.

Peyron, G., 2000. Cultiver le palmier-dattier. Ed. Gridao. Montpellier. 11-67 pp.

Puri A., Sahai R., Singh KL., Saxena RP., Tandon JS., Saxena KC., 2000. Immunostimulant activity of dry fruits and plant materials used in Indian traditional medical system for mothers after childbirth and invalids. *Journal of Ethnopharmacology*.71: pp89-92.

R

Ribéreau-Gayon P., 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris : p254.

S

- Salah A., Al-Maiman, 2005. Effect of date palm (*Phoenix dactylifera*) seed fibers on plasma lipids in rats. *Journal of King Saud University*, 17: pp117-123.
- Sanchez-Moreno C., 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8 (3): 121-137.
- Selvam ABD., 2008. Inventory of vegetable crude drug samples housed in botanical survey of India, Howrah. *Pharmacognosy Reviews*, 2: pp61-94.
- Shafi Bhat R., Al-daihan S., 2012. Antibacterial properties of different cultivars of *Phoenix dactylifera* L. and their corresponding protein content. Scholars Research Library , Annals of biological Research, vol.3 (10): 4751-4757.
- Shraideh ZA., Khaled H., Abu-Elteen, Sallal AKJ., 1998. Ultrastructural effects of date extract on *Candida albicans*. *Mycopathologia*, 142: pp119-123.
- Siboukeur O., 1997. Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger: p106.
- Siddhuraju P. et Becker K., 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101: 10-19.
- Smirnoff N. et Cumbes QJ., 1998. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solute. *Phytochemistry*. 28: 1057-1060.
- Sundus H A. (2009). Antioxidant Properties of Water Extracts for the Iraqi Plants *Phoenix Dactylifera*, *Loranthus Europeas*, *Zingiber Officinalis* and *Citrus Aurantifolia*. *Modern Applied. Sci.* 3:30-40.

T

- Tahraoui A., El-Hilaly J., Israili ZH., Lyoussi B., 2007. Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in southeastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*, 110: pp105-117.

Tapas AR., Sakarkar AM., KakdeRB., 2008. Flavonoids as nutraceuticals: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7: pp1089-1099.

Trichine H. S., 2016. Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylefira* L.) de sud-Est algérien. Thèse de magister en Ecophysiologie vegetal. Université d'oran, Oran: pp54-61.

V

Vayalil PK., 2002. Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (*Phoenix dactylifera* L. *Arecaceae*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: pp610-617.

Velioglu YS., Mazza G., Gao L., Oomah BD., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agrical Food Chemistry*, 46 : pp. 4113–4117.

W

Wang H., Cao G., Prior R., 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 304-309.

Well A.F., Structural Inorganic Chemistry, 5th ed., Oxford University Press, Oxford, UK, 1984.

Wertheimer, M., 1956. Recherche et observations sur la plantation des palmiers dattiers dans le Ziban (région de Biskra). *Fruits*. Vol 11 : Pp 481 – 487.

Wu X., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., Gebhardt S. and Prior R. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Agric. Food Chem.* 52:4026–4037.

Y

Yahiaoui K., 1998. Caractérisation physico-chimique et l'évolution du brunissement de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger: p103.

Yangthong M, Hutadilok-Towatana N, Phromkunthong W. Antioxidant Activities of Four Edible Seaweeds from the Southern Coast of Thailand. *Plant Foods Human Nutrition* 2009; 64:218–223.

Z

Zaid A., 1999. Date palm cultivation. Ed. Rome: United Nations FAO Plant Production and Protection Paper.

Zerrouak M., Hadji N., 2019. Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *artémisia herba alba* de la région de Khenchela. Mémoire de master. Option: chimie pharmaceutique: p37.

Annexe

Annexe 1. Préparation de milieu de culture (Zerrouak et Hadji, 2019)

Gélose de Muller Hinton est une gélose standardisée pour les tests de sensibilité des souches bactériennes à différentes concentrations d'extrait, pour la préparation de la gélose de Muller Hinton, on a besoin :

-23g de la poudre de Muller Hinton ;

-25g de l'agar agar.

Le milieu de culture préparé comme suite :

Dissoudre 23g de la gélose déshydratée dans 1 litre d'eau distillé, puis on mesure le PH à l'aide d'un PH mètre, et ajuster le PH à l'aide d'une base NaOH ou d'un acide HCL jusqu'au PH=7. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, homogénéiser la suspension obtenue avant de répartir, puis répartir le volume dans des flacons de verre bien fermé pour stériliser, puis auto-claver pendant 15minutes à 121⁰C. Laisser le refroidir, puis couler en boîte de pétri (25ml par boîte) dans un milieu stérile et laisser reposer. Ils sont prête à l'utilisation immédiatement ou stocker à 2⁰C à 8⁰C pendant une semaine ou plus.