



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique

Université AbbèsLaghrounKhenchela

Faculté des Sciences de la Nature et de Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Option : Biochimie appliquée

Thème:

**Détermination de l'activité biologique *in vitro* des
déchets du palmier dattier (pédicelles)**

Présenté par :

TAMRABET CHAIMA et BOUSSETTA MAROUA

Soutenu devant le Jury composé de:

Président : Dr BOUAZZA Lyas

MCB. U. AbbèsLaghroun-Khenchela

Encadreur : Dr BOUFENNARA Souhil

MCA. U. AbbèsLaghroun-Khenchela

Examineur :Rahal Khaled

MAA. U. AbbèsLaghroun-Khenchela

Année universitaire : 2020 - 2021

Remerciements

Avant tout, je remercie Allah, le bon Dieu, qui m'a donné l'ambitieux, le défi, la santé et le courage pour terminer ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur, le **Dr. BOUFENNARA Souhil** Pour les orientations et les encouragements précisément quand nous en avons le plus besoin et sans lui, il n'aurait été presque impossible de produire le présent travail.

Notre sincères remerciements à le Dr BOUAZZA Lyas d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions Mr Rahal Khaled d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Enfin, nos plus sincères remerciements vont spécialement à nos très chers parents, ainsi qu'à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à toute personne qui de loin ou de près nous a aidés.



Dédicaces

La vie n'est qu'une éclaircie,

Et un jour de réussite est un jour très cher.

Je rends grâce, à mon Dieu de m'avoir donnée la force, la volonté, l'intelligence et la sagesse d'être patiente dans mes études.

En signe de respect et de reconnaissance je dédie ce modeste travail :

A mon père Allah yarhimou qui nous a quittés sans nous prévenir, sans nous faire ses adieux.

A mon père que n'oublierai jamais tant que je respire et tant que mon cœur bat pour continuer à l'aimer.

A la personne devant laquelle tous les mots de l'univers sont incapables d'exprimer mon amour et mon affection pour elle, à l'être qui n'est le plus cher, à ma douce mère.

A mes sœurs et leurs maris, mes frères et leurs femmes, sources constantes d'encouragement, j'espère que Dieu vous garde et vous montre le droit chemin.

A tous mes cher ami (e) s, qui m'ont aidé moralement et financièrement et ont été la cause de ma réussite.

A tous les gens que je connaisse.

A tous mes collègues de promo 2016 en Biochimie appliquée.

Chaïma



Dédicaces

*A mes chers parents qui m'ont donné toute les belles choses:
existence, amour, tendresse, confiance, qui ont partagé avec moi
toutes mes instants de joie et de tristesse, qui m'ont soutenue
dans toutes les circonstances de ma vie, qui m'ont toujours
épaulé, aidé, orienté vers les bons sens.*

A mes frères et sœurs :Malak, Mosaab et Milad

A mes cousins et cousines et a toute la famille Boussetta.

A tous les membres de ma famille.

*A tous mes collègues et amis de master 2 spécialité biochimie
appliquée À tous ceux qui m'aiment.*

*Et a toutes personne ayant contribué de près ou de loin pour ce
travail.*

Marwa

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux composés à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressées dans cette étude, d'une part à la caractérisation qualitative et quantitative de l'extrait méthanolique des pédicelles et d'autre part, à la détermination des activités biologiques.

La première partie concerne la caractérisation chimique de l'extrait des pédicelles des dattes par le screening phytochimique et le dosage des polyphénols et les flavonoïdes. Le criblage phytochimique a été pu mettre en évidence la présence des coumarines, terpenoïdes et les composés réducteurs.

Quantitativement le dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait a montré une teneur de $55,51 \pm 0,03 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait, $1,03 \pm 0,003 \mu\text{g EC/mg}$ d'extrait respectivement.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude de l'activité antioxydant, antibactérienne.

L'activité antioxydant a été évaluée en utilisant les tests du molybdate d'ammonium et de piégeage du radical hydroxyle (OH^\cdot) et l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Les résultats obtenues de l'activité antioxydant de l'extrait brut des pédicelles a révélé une grande activité avec une IC_{50} de $2,46 \text{ mg/ml}$. Cependant, ce même extrait semble agir de façon très faible contre les souches *Escherichia coli*, *Klebsiellasp*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

Abstract

As part of the discovery of new compounds from natural sources, we are interested in this study on the one hand, with the qualitative and quantitative characterization of the pedicels of plant *Phoenix dactylifera* L and on the other hand with determination of the biological activities.

The first part relates to the chemical characterization of the extract methanolic of the pedicels of date palm with the phytochemical screening and the determination of different metabolites. The phytochemical screening was able to highlight the presence of the coumarins, terpenoids and reducing compounds.

Quantitatively, the proportioning of polyphenols and flavonoids in the extract methanolic of date palm shows a content of 55.51 ± 0.03 μg EAG / mg of extract, 1.03 ± 0.003 μg EC / mg of extract respectively.

The second part was devoted to the study of antioxidant, antibacterial activity of the extract methanolic of the pedicels.

Antioxidant activity was assessed using ammonium molybdate and hydroxyl radical scavenging (OH^\cdot) tests and antibacterial activity by the agar diffusion method.

Regarding the antioxidant activity, the result obtained revealed a high activity with IC_{50} : 2, 46 mg/ml, this same extract acts very weakly against the strains *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*.

الملخص

كجزء من اكتشاف مركبات جديدة من مصادر طبيعية نحن مهتمون في هذه الدراسة من جهة بالوصف النوعي والكمي للمستخلص الميثانولي لنبته *phonix dactylifera L* ومن جهة ثانية بتحديد أنشطتها البيولوجية

الجزء الأول يتعلق بالوصف الكيميائي للمستخلص الميثانولي بعرجون النخلة بواسطة الفحص الكيميائي النباتي كان الفحص الكيميائي قادرا على إثبات وجود الكومارين و التربينويدات و المركبات المختزلة

كميا تقدير كمية البوليفينولات و الفلافونويدات في المستخلص الميثانولي لنبته *phonix dactylifera L* اظهر قيمة 0.03 ± 55.51 ميكروغرام / ملغ من المستخلص ، 0.003 ± 1.03 ميكروغرام / ملغ من المستخلص على التوالي.

الجزء الثاني خصص لدراسة النشاط المضاد للأكسدة قمنا بتقييمه عن طريق استخدام اختبارات مليبيدات الامونيوم و كسح (OH) خدور الهيدروكسيل و النشاط المضاد للبكتيريا عن طريق انتشار الاجار

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الخام من الباديل نشاطاً عالياً مع $IC_{50}: 2,46 \text{ mg/ml}$ ومع ذلك ، فإن هذا المستخلص نفسه يعمل بشكل ضعيف للغاية ضد سلالات *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* و *Klebsielle spp*

Liste des figures

Figure 1: Carte de répartition géographique du genre <i>Phoenix</i> dans le monde (Ben Mbereket Deboub, 2015).....	5
Figure 2: Aire de distribution du palmier dattier (Bendahou et Dufresne et Kaddami et Habibi, 2007).....	5
Figure 3 : Répartition géographique du patrimoine phoéniciotier avec les principales régions phoéniciotier (Biskra, Ouargla, El-Oued)(Tahri, 2017).....	6
Figure 4: Figuration du palmier dattier (Munier, 1973).....	8
Figure 5 : pédicelles du palmier dattier(Yazid, 2012).....	9
Figure 6: Structure chimique du noyau phénol(Buchanan et al., 2000).....	12
Figure 7 : Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numérotation classique (Jacques-Macheix et Fleurie et Jay-Allemand, 2005).....	14
Figure 8 : Les principales classes des flavonoïdes (Jacques-Macheix et Fleurie et Jay-Allemand, 2005).....	15
Figure 9 : Structure des tanins hydrolysables (Peronny, 2005)..... ;.....	16
Figure 10 : Structure des tanins condensés (Peronny, 2005).....	16
Figure 11 : Principaux agents antibactériens leurs mode d'action (Benkhalel et al., 2013).....	19
Figure 12: Principe de la méthode de diffusion sur disques.....	29
Figure 13 : Capacité antioxydant totale de l'extrait méthanolique des pédicelles testée	36
Figure 14 : pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des pédicelles	37
Figure 15 : Pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des pédicelles du palmier	38
Figure 16 : Courbe étalonnage de l'acide gallique (Khelfallah A, 2012)	58
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Kholkhal F, 2013).....	58
Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Saidi I, 2018).....	59
Figure 19 : Pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique par la méthode du piégeage du radical hydroxyle (El Haci, 2014).....	59

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différentes espèces du genre <i>Phoenix</i> (Bezato, 2013).....	4
Tableau 2 : Répartition par wilaya de la superficie, nombre des palmiers et la production des dattes (Madrup, 2017).....	7
Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques des pédicelles de dattes broyés (Yazid, 2012).....	9
Tableau 4 : compositions chimiques (%) des pédicelles des dattes bruts (Yazid, 2012).....	10
Tableau 5 : données phytochimiques des pédicelles des dattes (matière sèche g kg ⁻¹ MS).....	11
Tableau 6 : Principales classes des composés phénoliques (Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006).....	13
Tableau 7 : Souches utilisées dans l'activité antibactérienne.....	22
Tableau 8: type d'inhibition des souches microbiennes en fonction des diamètres de la zone d'inhibition (Meena et Sethi 1994 ; Ela et al., 1996).....	30
Tableau 9: caractéristiques de l'extrait des pédicelles.....	33
Tableau 10: Screening phytochimique de l'extrait des pédicelles des dattes.....	34
Tableau 11: Teneurs des polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique des pédicelles de palmier dattier.....	35
Tableau 12: Diamètre des zones d'inhibition (en mm) de l'extrait des pédicelles des dattes.....	39
Tableau 13: Profil de sensibilisation des souches bactériennes vis-à-vis de l'extrait testé.....	40

Liste des abréviations

Abs : absorbance

DMSO :Diméthylsulfoxyde

Da : Dalton

ERO :Espèces réactives oxygénées

g :gramme

h : heures

M : Molarité

MFU : McFarlandUnits

pH : Potentiel d'hydrogène

V/V : Volume par Volume

UV : Ultra Violet

µl : microlitre

Sommaire

Remerciement

Dédicaces

Résumés

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction1

Chapitre I. Revus bibliographique

I. La plante « *phonixdactyliferaL* ».....3

I.1. Généralités3

I.2. Taxonomie3

I.3. Nom vernaculaire4

I.4. Répartition géographique4

I.5. Description botanique ou morphologique7

I.6. Sous-produits du palmierdattier8

I.6.1. Usages traditionnels des sous-produits du palmier dattier9

I.6.2. Les pédicelles.....9

I.6.2.1. Caractéristiques physicochimiquesdes pédicelles9

I.6.2.2. Les compositions chimiques des pédicelles10

I.6.2.3. Données phytochimiques des pédicelles10

II. Les métabolites secondaires11

II.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires11

II.2. Classification des métabolites secondaires11

II.3. Les composés phénoliques12

II.3.1. Définition des composés phénoliques12

II.3.2. Chimie des composés phénoliques12

II.3.3. Classifications des composés phénoliques	12
II.3.3.1. Phénols simples	13
II.3.3.2. Les flavonoïdes	14
II.3.3. Les tannins.....	15
III. Activités biologiques étudiées.....	16
III.1. Activité antioxydant	16
III.1.1. Généralités	16
III.1.2. Le stress oxydante	17
III.1.3. Radicaux libres	17
III.2. Activité antibactérienne.....	17
III.2.1. Généralités	17
III.2.2. Les agents antimicrobiens	18
III.2.3. Définition de l'activité antibactérienne	18
Chapitre II. Matériel et méthodes	
I. Matériel	21
I.1. Matériel biologique	21
I.1.1. Matériel végétal	21
I.1.2. Souches bactériens	21
I.2. Produits chimique	21
I.3. Appareillages.....	22
II. Méthodes.....	22
II.1. Préparation de l'extrait végétal	22
II.1.1. Macération avec méthanol	23
II.1.2. Le rendement	24
II.2. Etude qualitative	25
II.2.1. Screening phytochimique	25
II.3. Etudes quantitatives	26
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux	26
- Principe	26
- Protocole	26

II.3.2. Dosage des flavonoïdes	27
- Principe	27
- Protocole	27
II.4. Activités biologiques	27
II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant	27
II.4.1.1. La capacité antioxydant totale (TAC) par la méthode au molybdate d'ammonium...	27
- Principe.....	27
- Protocole	27
II.4.1.2. Piégeage de radical hydroxyle (OH [·])	28
- Principe.....	28
- Protocole	28
II.4.2. Activité antibactérienne	28
II.4.2.1. Etude qualitative de l'effet antibactérienne	28
- Principe.....	29
- Protocole	29
II.5. Analyse statistiques.....	31
Chapitre III. Résultats et discussion	
I. Résultats de l'extraction	33
II. Résultats de l'étude qualitatif	33
II.1. Résultats des tests phytochimiques	33
III. Résultats de l'étude quantitative	35
III.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	35
IV. Evaluation des activités biologiques	36
IV.1. Evaluation de l'activité antioxydant	36
IV.1.1. Résultats du test de la capacité antioxydant totale (TAC) par la méthode au molybdate d'ammonium	36
IV.1.2. Résultats du test de piégeage de radical hydroxyle (OH [·])	37
IV.1.2.1. Calcul de IC ₅₀	38
IV.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	39
IV.2.1. Résultats de l'antibiogramme	39

Conclusion42

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Introduction

Plus de 120 composés provenant des plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel (Famsworth *et al.*, 1985; Cordell et Colvard, 2005).

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent (Marc *et al.*, 2001).

L'étude de la chimie fait l'objet d'intenses investigations pour aider à déterminer les constituants chimiques présents dans les plantes. Pour mener à bien ces investigations, plusieurs travaux sont consacrés afin de déterminer leurs constituants et analyser leurs éventuels effets pharmacologiques.

De nombreuses études ont démontré que les extraits de plantes médicinales contiennent des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif impliqué dans le vieillissement et la progression de plusieurs maladies (Manallah, 2012 ; Sahli *et al.*, 2017).

De plus, l'activité antibactérienne des extraits est en relation directe avec la composition et la concentration en composés actifs, le type de microorganismes cibles, les conditions et les méthodes de traitement.

Vu l'importance que présente le *Phoenix dactylifera* L dans les régions du Sud-est d'Algérie, notre travail s'inscrit dans ce contexte général qui a pour objectif de démontrer la richesse de notre plante (pédicelles) en polyphénols et en flavonoïdes, et déterminer *in vitro* l'activité antioxydante, antibactérienne. Notre projet de recherche est divisé en deux parties. La première est dédiée à une étude phytochimique basée sur la mise en évidence des polyphénols et ces principales classes dans l'extrait méthanolique des pédicelles. La deuxième partie est consacrée à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante par deux méthodes, la méthode de molybdate d'ammonium et la méthode de piégeage du radical hydroxyle (OH[·]). L'activité antibactérienne est déterminée en se basant sur les souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* par la technique d'aromatogramme.

Chapitre I :
Etudes bibliographiques

I. La plante « *phonixdactylifera*L »**I.1. Généralités**

Le palmier dattier « *phonix dactylifera L* ». A été nommé par Linné en 1734. Selon (Al-Alawi et al.,2017), *Dactylifera* est un groupe du mot grec *dactylus*, qui signifie « doigt » et du mot latin « *ferous* » qui signifie « portant ». Il désigne les grappes de fruits produits par cette plante. C'est une espèce dioïque, monocotylédone cultivé depuis 5000 ans (More et White, 2005) appartenant à la famille des *Arcaceae* qui compte environ 235 genres et 4000 espèces (Munier, 1973). Comme toutes les espèces du genre *phonex*, il existe des arbres males appelés communément Dokkars ou pollinisateurs et des arbres femelles Nakhla (Chaibi, 2002). L'espèce *phonix dactylifera L*. est l'une des cinq espèces domestiquées des *areacaceae* : les quatre autres espèces sont le palmier *areca* (*Areca catechu*), le palmier pêche (*Bactrisgasipas*), le cocotier (*Cocos nucifera*) et le palmier à huile (*Elaeis guineensis*) (Jaradat, 2015).

I.2.Taxonomie

D'après Djafouretal., (2005), la classification qu'occupe *phonix dactylifera L* est la suivante :

Classification botanique

Groupe : Spadiciflores**Embranchement :** Angiospermes**Classe :** Monocotylédones**Ordre :** Palmaes**Famille :** Palmacées**Sous-famille :** Coryphoideae**Tribu :** Phoenixées**Genre :** Phoenix**Espèce :** Phoenix dactylifera L

Le genre *phoenix* comporte au moins douze espèce, dont la plus commune est *dactylifera* (Espiard, 2002).

Genre	Espèces
<i>Phoenix</i>	<i>Dactylifera L</i>
	<i>Atlantica A. Chev</i>
	<i>Canariensis Chabaud</i>
	<i>Reclibata Jaca</i>
	<i>Sytvestris Roxb</i>
	<i>Humilis Royle</i>
	<i>Hanceana Naudin</i>
	<i>Roebelini O'Brien</i>
	<i>Farintfera Roxb</i>
	<i>Rupicola T. Anders</i>
	<i>Acaulis Roxb</i>
	<i>Paludosa Roxb</i>

Tableau 1: Les différentes espèces du genre *phoenix* L (Bezato, 2013)

I.3 Non vernaculaire et synonyme

Palmier dattier (Français), palma datilera (Espagnol), palma daterro (Italien), Manah (Persan), Tamar (Hébreu). Nakhla (Arabe), Tazdait, Tanekht, Tainiout (en berbère suivant les régions) (Tirichine, 2010).

I.4 Répartition géographique du palmier dattier

Le patrimoine phoeniciale est concentré dans les régions arides au sud de la méditerranée et dans la frange méridionale du proche orient de puis le sud de l'Iran à l'est jusqu'à la coté atlantique de l'Afrique du nord à l'ouest, entre les altitudes 35° nord et 15° sud. L'Espagne reste le seul pays d'Europe à produire des dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche, située à l'ouest d'alicante à 39° nord.

Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine et en Australie à l'Etats-Unis d'Amérique (Garoumouche et Boutali, 2008).

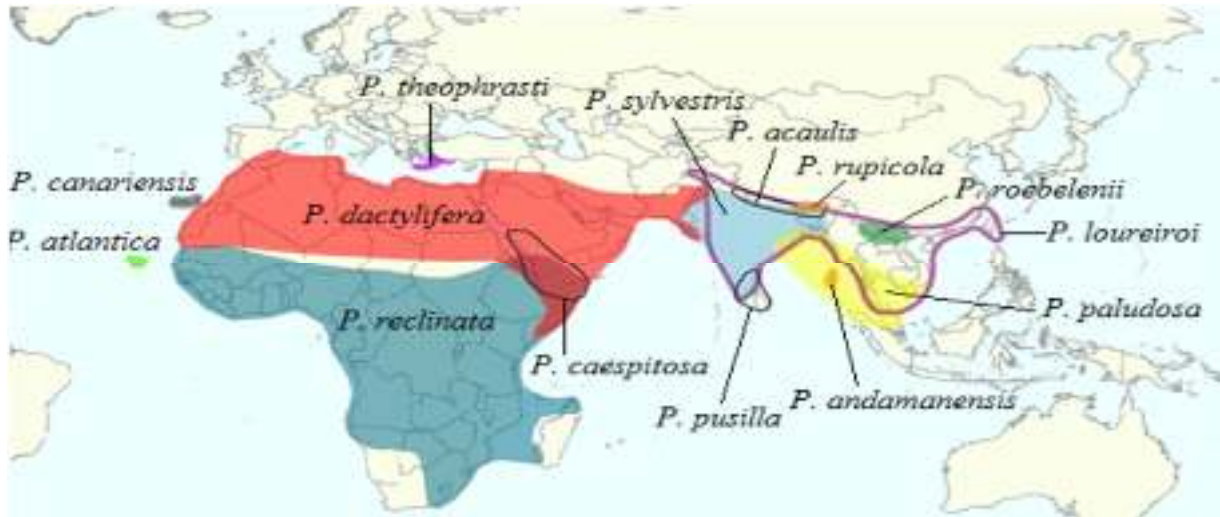


Figure 1: Carte de répartition géographique du genre *Phoenix* dans le monde (Mbereket Deboub, 2015)

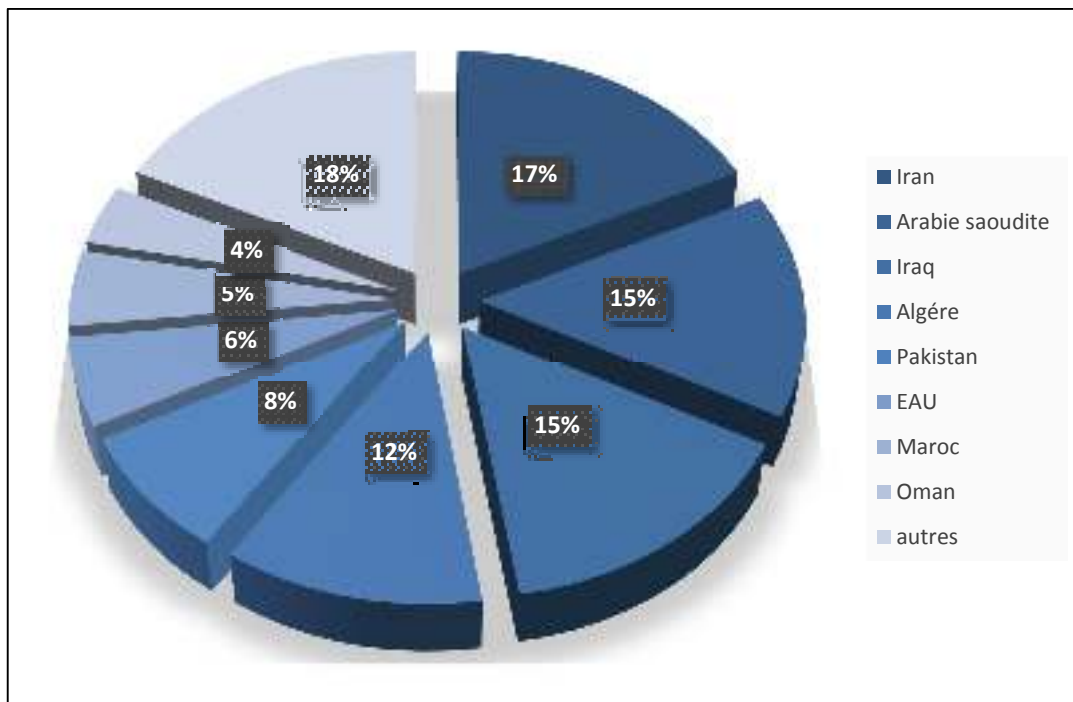


Figure 2: Aire de distribution du palmier dattier (Bendahou et Dufresne et Kaddami et Habibi, 2007)

L'origine du palmier dattier en Algérie, vient de la « péninsule arabe » ; à travers les commerçants qui ont propagé du palmier autour de la méditerranée, il était introduit spécialement dans les lieux disposant d'eau dans le Sahara (Toutain, 1967).

La culture du palmier dattier occupe toutes les régions situées sous l'Atlas Saharien (Houari, 1992), dans la partie septentrionale est et centré du Sahara Algérien au niveau des oasis, concentrées essentiellement dans le sud-est du pays (Messar, 1996).

Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement pour une superficie de évalué à 167,000 hectares (en réalité 16 wilayas car la wilaya de M'sila a perdu son potentiel phoenicicole).

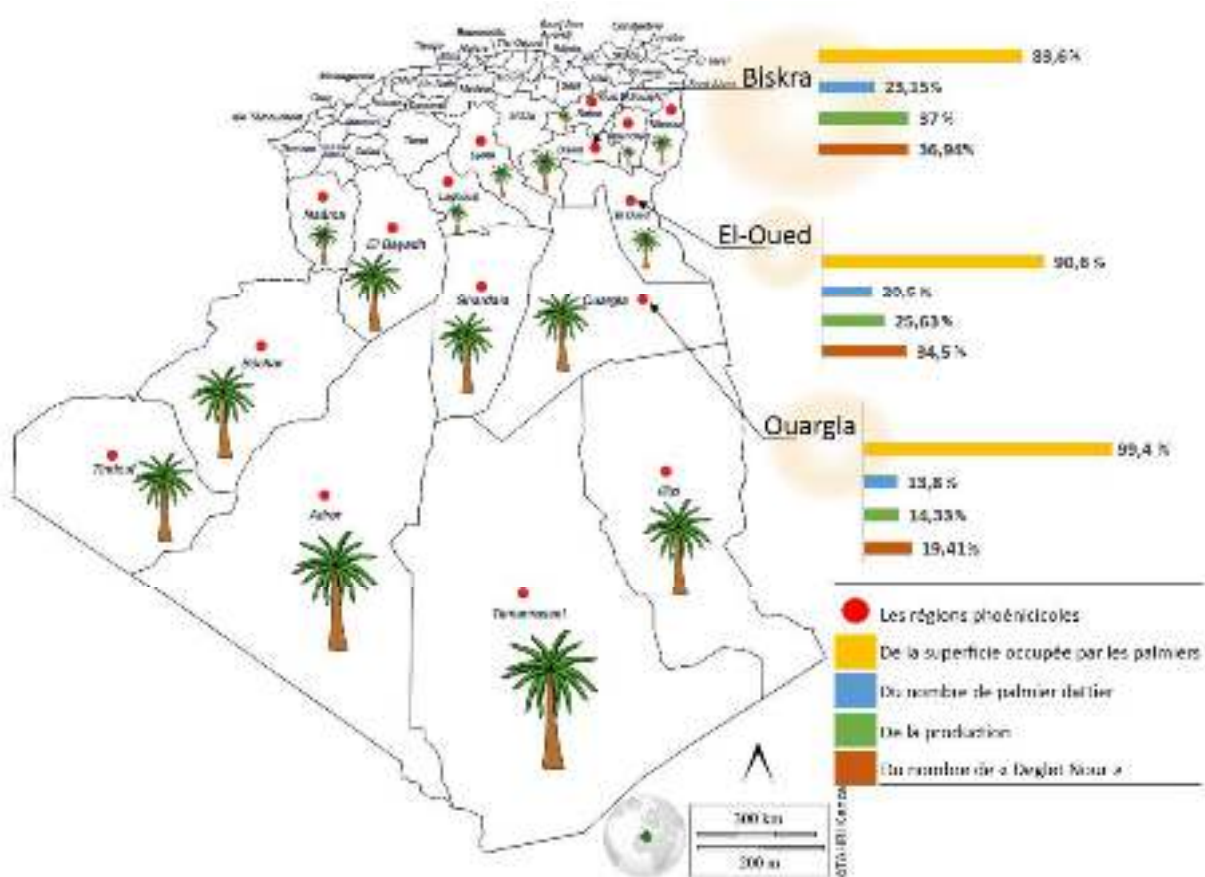


Figure 3 : Répartition géographique du patrimoine phoenicicole avec les principales régions phoenicicole (Biskra, Ouargla, El-Oued) (Tahri, 2017).

Wilayas	Production (qx)	Nombre de palmier dattier	Surfaces (ha)
Biskra	4.077.900	4.315.100	42.910
El-Oued	2.474.00	3.788.500	36.680

Ouargla	1.296.300	2.576.600	21.980
Adrar	910.300	3.799.000	28.330
Gherdaia	565.000	1.246.500	10.850
Bechar	300.500	1.639.800	14.120
Tamnasset	109.400	688.900	7.000
Khenchela	68.200	124.400	770
Tebassa	20.500	61.800	820
Laghouat	16.200	37.300	320
Illizi	15.600	129.100	1.250
Batna	14.000	28.700	190
El-Bayadh	10.300	63.900	640
Naama	10.200	50.600	510
Tindouf	84.00	45.200	430
Djelfa	6.800	10.100	100
M'sila	0	0	0
Total	9.903.600	18.605.100	166.900

Tableau 2 : Répartition par wilaya de la superficie, nombre des palmiers et la production des dattes (Madrap, 2017).

La wilaya de Biskra et la première région phoeniciale avec 27,4% de la superficie totale, 23,1% du nombre totale de palmiers dattiers et 41,2% de la production nationale de dattes. Elle est suivie par la wilaya d'El-Oued avec respectivement 22%, 22,4% et 25%. Ces deux wilayas totalisent à elles seules plus des deux tiers de la production nationale de dattes (Madrap, 2017).

I.5. Description botanique ou morphologique

Le palmier dattier est une plante monocotylédone à croissance apicale dominante. Le diamètre du tronc de l'arbre demeure généralement stable sous les mêmes conditions à partir de l'âge adulte. On distingue 3 parties : un système racinaire, un organe végétatif composé du tronc et de feuilles et un organe reproductif composé d'inflorescences male ou femelles. Les valeurs quantitatives et qualitatives des organes végétatif et reproductif sont variables. Il

semble possible de caractériser les cultivars par la comparaison de la plupart de ces paramètres qui forment des index taxonomiques différentiels (Sedra, 2003).

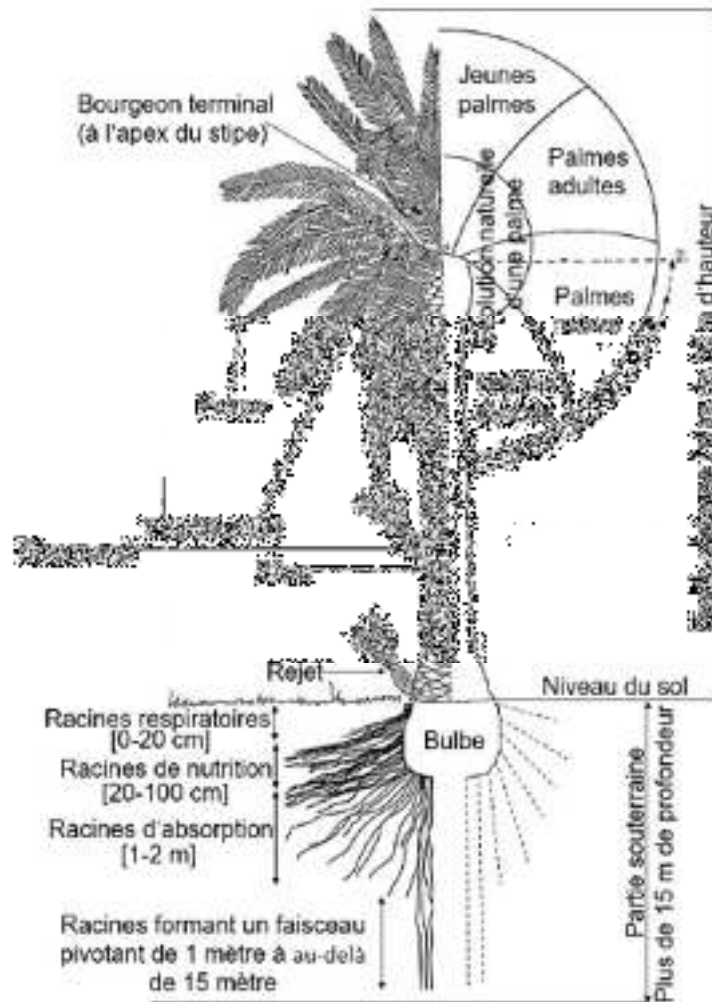


Figure 4: Figuration du palmier dattier (Munier, 1973)

I.6. Sous-produits du palmier dattier

Le palmier dattier, offre une large gamme de sous-produits exploités par la population saharienne, à savoir : le vinaigre, l'alcool et les levures par fermentation microbiologiques des dattes, farine de dattes utilisées dans la panification, des jus par extraction des dattes, le tronc d'arbre utilisé dans l'ébénisterie traditionnelle comme bois de chauffage et charpentes de bâtiments, le Lagmi est un boisson représentant la sève qui s'écoule du stipe, et des sous-produits utilise comme alimentation du bétail sont pratiqué par les éleveurs locaux d'une façon traditionnelle depuis longtemps (Chehma et al., 2001).

Les sous-produits les plus utilisés sont principalement les déchets de dattes, les pédicelles de dattes et les palmes sèches avec un degré moindre (Chehema *et al.*, 2001).

I.6.1. Usages traditionnels du sous-produit de palmier dattier

Le palmier est une source de matière première d’une grande diversité (Ben Salah, 2014). Dans la région, il existe certaines activités à caractère socio-économique, en relation avec les sous-produits du palmier dattier (Benkadi, 2013).

I.6.2. Les pédicelles

Les pédicelles sont les résidus restant des régimes de dattes après leur récolte, estimés à 5000 tonnes/an (Chehema *et al.*, 2000).



Figure 5 : pédicelles du palmier dattier (Yazid, 2012)

I.6.2.1. Caractéristiques physico-chimiques des pédicelles

Les caractéristiques physico-chimiques des pédicelles de dattes broyées sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

Diamètre moyen des particules (μm)	177 06
Humidité (% massique)	10,4
Densité apparente (g/cm^3)	0,57
pH au point zéro	5,2
Surface spécifique (m^2/g)	2 654

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques des pédicelles de dattes broyées (Yazid, 2012).

I.7.2.2. Les compositions chimiques des pédicelles :

Eléments	% massique
Na ₂ O	0,446
MgO	0,54
Al ₂ O ₃	0,236
SiO ₂	1,091
P ₂ O ₅	0,151
SO ₃	1,432
K ₂ O	6,0789
CaO	2,792
TiO ₂	0,034
Cr ₂ O ₃	0,109
Fe ₂ O ₃	0,0849
NiO	0,066
ZnO	0,011
SrO	0,016
Cl	2,010
Br	0,004
PAF	85,0412
Total	100

Tableau 4 : compositions chimiques (%) des pédicelles des dattes bruts (Yazid, 2012)

I.6.2.3. Données chimiques des pédicelles :

Les travaux de Boufennara et *al.*, 2019 ont montré que les pédicelles du palmier dattier contiennent plusieurs composés chimiques. Ces composés sont présentés dans le tableau ci-dessus :

La plante végétale	Matière sèche	Matière organique (% MS)	Protéine bruts (% MS)	Fibre au détergent neutre (% MS)	Fibre au détergent acide (% MS)	Lignine au détergent acide (% MS)
Pédicelles	939	940	536	335	80,1	33

Tableau 5 : Donnés chimiques des pédicelles des dattes (g kg⁻¹MS)

II. Les Métabolites secondaires

II.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007**).

II.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (**Vermerris, 2006**).

II.3. Les composés phénoliques

II.3.1. Définition des composés phénoliques

Dans la littérature, il existe deux propositions pour définir les polyphénols. Le premier définit les polyphénols comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupements phénoliques, tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol polyhydroxylé. Ces polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales (**Buchanan et al., 2000**). Il s'agit des dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés (**Lobstein, 2010**).

II.3.2. Chimie des composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des composés qui ont un ou plusieurs groupes hydroxyle attachés directement à un cycle aromatique (figure 6).



Figure 6: Structure chimique du noyau phénol (Buchanan *et al.*, 2000).

Les polyphénols sont des composés qui ont plus d'un groupe hydroxyle phénolique attaché à un ou plusieurs cycles benzènes. Les composés phénoliques sont caractéristiques des plantes et sont habituellement trouvés comme esters ou glycosides plutôt qu'en tant que composés libres (Vermerris et Nicholson, 2006).

II.3.3. Classification des composés phénoliques

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à nos jours chez les végétaux. Ces composés peuvent être regroupés en de nombreuses classes, qui diffèrent d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple composé en C6 à des formes hautement polymérisés), ensuite par les degrés d'hydroxylation, d'oxydation, enfin par les liaisons de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides ou protéines). Les formes les plus simples présentant des structures chimiques allant du simple acide phénolique en C6-C1 ou C6-C3 aux flavonoïdes en C15 et à des molécules condensés comme les tannins. De ce fait, trois grandes classes sont distinguées et suscitent un intérêt particulier grâce à leurs propriétés fort intéressantes dans les domaines agroalimentaire, cosmétiques et pharmaceutiques, à savoir les acides phénoliques, les flavonoïdes, et les tannins condensés (Rejeb, 2008).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples
6	C6	Phénols simples	Cathécol, hydroquinone
7	C6-C1	Acide phénols benzoïques	Acide gallique, acide salysalique, vanilline
8	C6-C2	Acétophénones	3-acétyl-6-méthoxybenzaldehyde
9	C6-C3	Acide phénols cinnamiques	Acide coumarique, Acide caféique
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline, Mangocétine
14	C6-C2-C6	Stiblènes	Hydrangéol, Pinosylvine
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes isoflavonoïdes	Quercétine, Roténoïde
18	(C6-C3) ₂	Lignanes	Matairésinol
30	(C6-C3-C6) ₂	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, Hinokiflavone
N	(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitanins

Tableau 6 : Principales classes des composés phénoliques (Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006).

II.3.3.1. Phénols simples

Les phénols simples (catéchol, guaiacol, phloroglucinol) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae), le plus souvent à l'état de glucoside du diphenol (arbutoside) ou de son monométhyléther. Les alkylphénols et leurs depsides, issus du métabolisme d'un poly- β -cétoster, sont caractéristiques des Lichens. On connaît également des alcénylphénols (urushiol) et des monoterpènes phénoliques (thymol) (Bruneton, 1999).

II.3.3.2. Les flavonoïdes :

L'ensemble des flavonoïdes, de structure générale en C₁₅ (C₆-C₃-C₆), comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes, dont certaines ont une très grande importance biologique et technologique : les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones et les flavonols, de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tannins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine.

C'est d'abord la structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (Jacques-Macheix et Fleurie et Jay-Allemand, 2005).

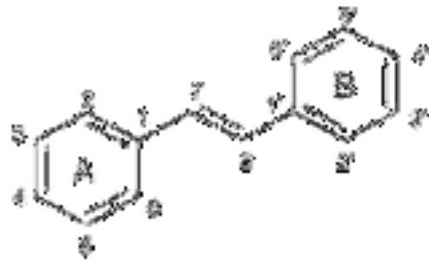
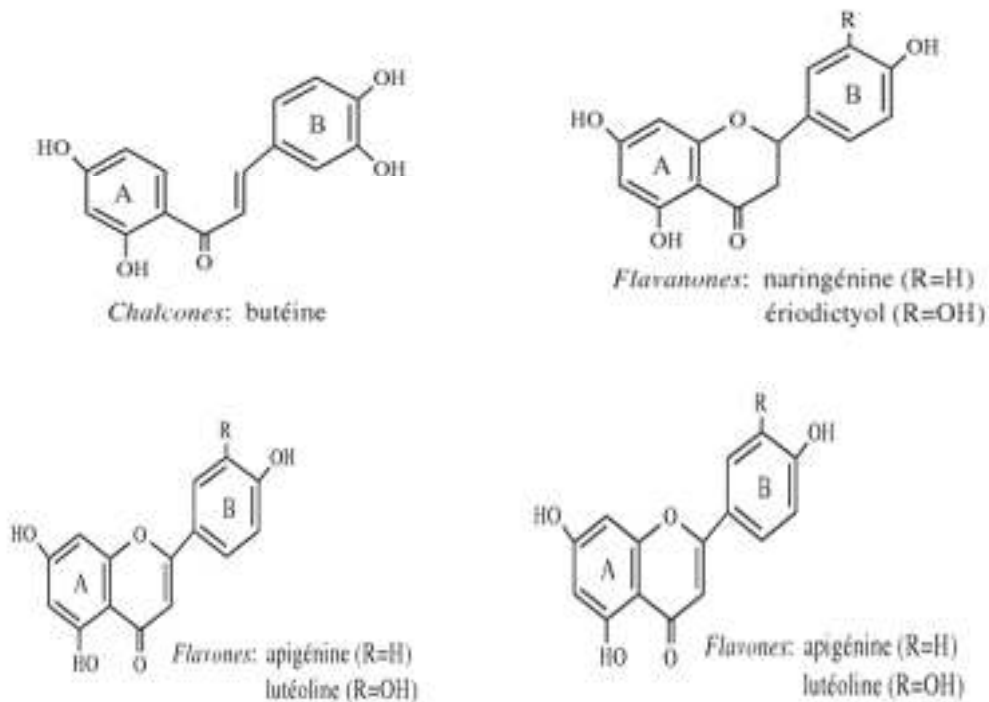


Figure 7 : Squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numérotation classique (Jacques-Macheix et Fleurie et Jay-Allemand, 2005).



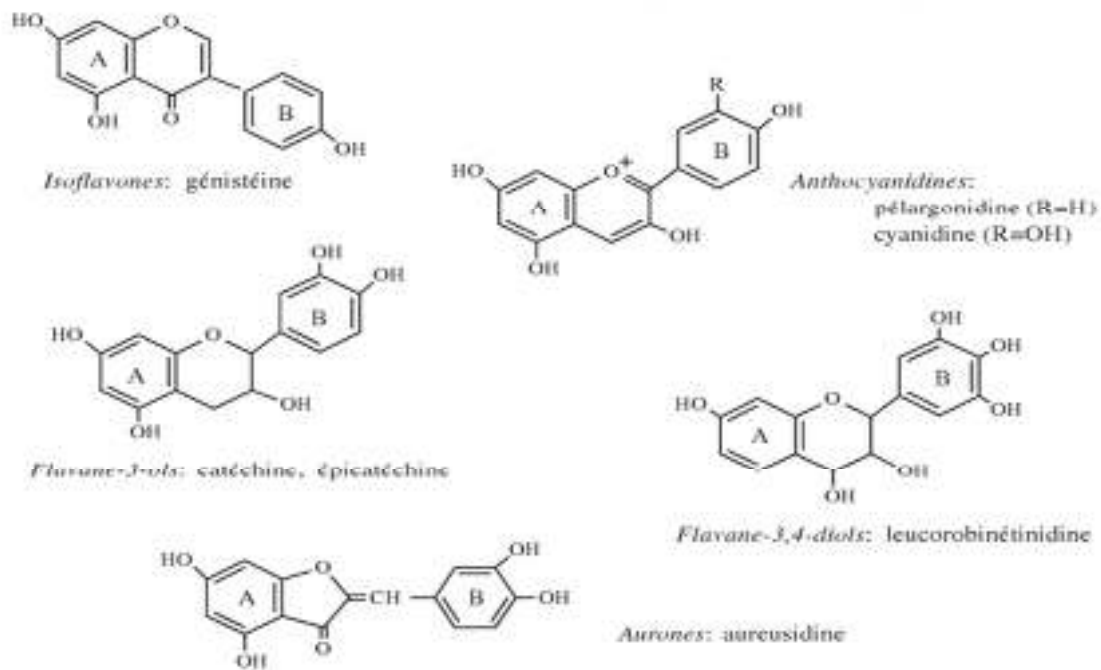


Figure 8 : Les principales classes des flavonoïdes(Jacques-Macheix et Fleurie et Jay-Allemand, 2005).

II.3.3.3. Les tannins

Les tannins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (Paris et Hurabielle, 1981).

Les tannins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les fagacées, les rosacées (Ghestem et al., 2001). On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tannins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique. Les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Breunet, 1999).

a) Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des polyesters de glucide et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol (Paris et Hurabielle, 1981).

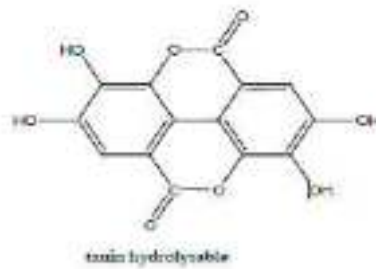


Figure 9 Structure des tanins hydrolysables (Peronny, 2005).

b) Les tannins condensés

Les tannins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisés par l'absence de sucre (Paris et Hurabielle, 1981).

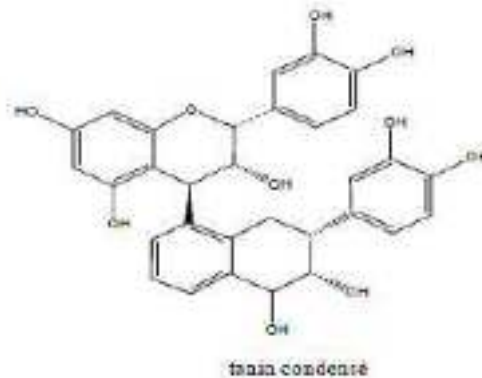


Figure 10 : Structure des tanins condensés (Peronny, 2005).

III. Activités biologiques étudiées

III.1. Activité antioxydante

III.1.1. Généralités

L'oxydation est un processus dans lequel une perte d'électrons ou un gain d'oxygène se produit. Elle s'accompagne toujours d'un processus de réduction dans lequel se trouve généralement une perte de l'oxygène. Ces réactions, qui sont appelées réactions d'oxydoréduction, sont à la base de nombreuses réactions biochimiques dans la chimie cellulaire, la biosynthèse et la régulation de la croissance cellulaire. Elles sont également importantes pour la compréhension de l'oxydation biologique et les effets radicaux /antioxydants. Alors que réducteur et oxydant sont des termes chimiques, dans les milieux

biologiques, ils sont appelés respectivement antioxydants et pro-oxydants (**Kohen et Nyska, 2002**).

III.1.2. Le stress oxydant

Le stress oxydant représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des ERO, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Le stress oxydatif est un fonctionnement de l'organisme qui est normal tant qu'il ne dépasse pas certaines limites. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, et dont nos cellules savent normalement très bien se débarrasser. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydants (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (**Benbrinis, 2011**).

III.1.3. Radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (c'est-à-dire pour former une liaison chimique) (**Jabot, 1994**).

Les radicaux libres, dérivés du métabolisme, sont produits dans toutes les cellules, même si certaines en fabriquent des quantités plus importantes (par exemple les macrophages pendant la phagocytose). Les principaux radicaux libres présents dans les cellules aérobies, notamment les cellules humaines, sont l'oxygène, les ions superoxydes, les radicaux hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène et les métaux de transition. Les radicaux libres présents dans la cellule oxydent les molécules (molécules se trouvant à l'intérieur des cellules, en particulier des lipides), ce qui provoque la mort des cellules. Toutefois le corps humain possède des mécanismes de défense contre les effets des radicaux libres. Ce sont les enzymes qui dégradent les peroxydes et les métaux de transition et des protéines ou d'autres molécules qui emprisonnent les radicaux libres (**Hubert, 1998**).

III.2. Activité antibactérienne

III.2.1. Généralités

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut

entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (**Billing et Sherman, 1998**). Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésions microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire. Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluoresces*, *Salmonella enteric*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholera*. Les flavonones ayant un groupement de sucre ont aussi montré une activité antimicrobienne, tandis que certaines flavonolignanes n'ont montré aucune activité inhibitrice envers les microorganismes (**Sandhar et al., 2011**).

III.2.2. Les agents antimicrobiens

Un agent antimicrobien ou désinfectant est défini par son pouvoir de tuer des populations microbiennes. On attend d'un agent désinfectant généralement une action à large spectre et plus rarement une action ciblée sur un germe en particulier (désinfection sélective). Pour une action bactéricide globale sur les bactéries on doit s'assurer de l'activité bactéricide de l'agent antimicrobien aussi bien sur les espèces à Gram positif que négatif, sans exclure le groupe CNM (*Corynebacterium*, *Nocardia*, *Mycobacterium*). Ces trois groupes de bactéries se distinguent par la composition et la structure de leur paroi cellulaire dont dépend la perméabilité aux agents antimicrobiens (**Pibiri, 2006**).

III.2.3. Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou composé présent au sein d'une plante qui à très faible concentration inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche bactérienne (**Necolas et Daniel, 1998**).

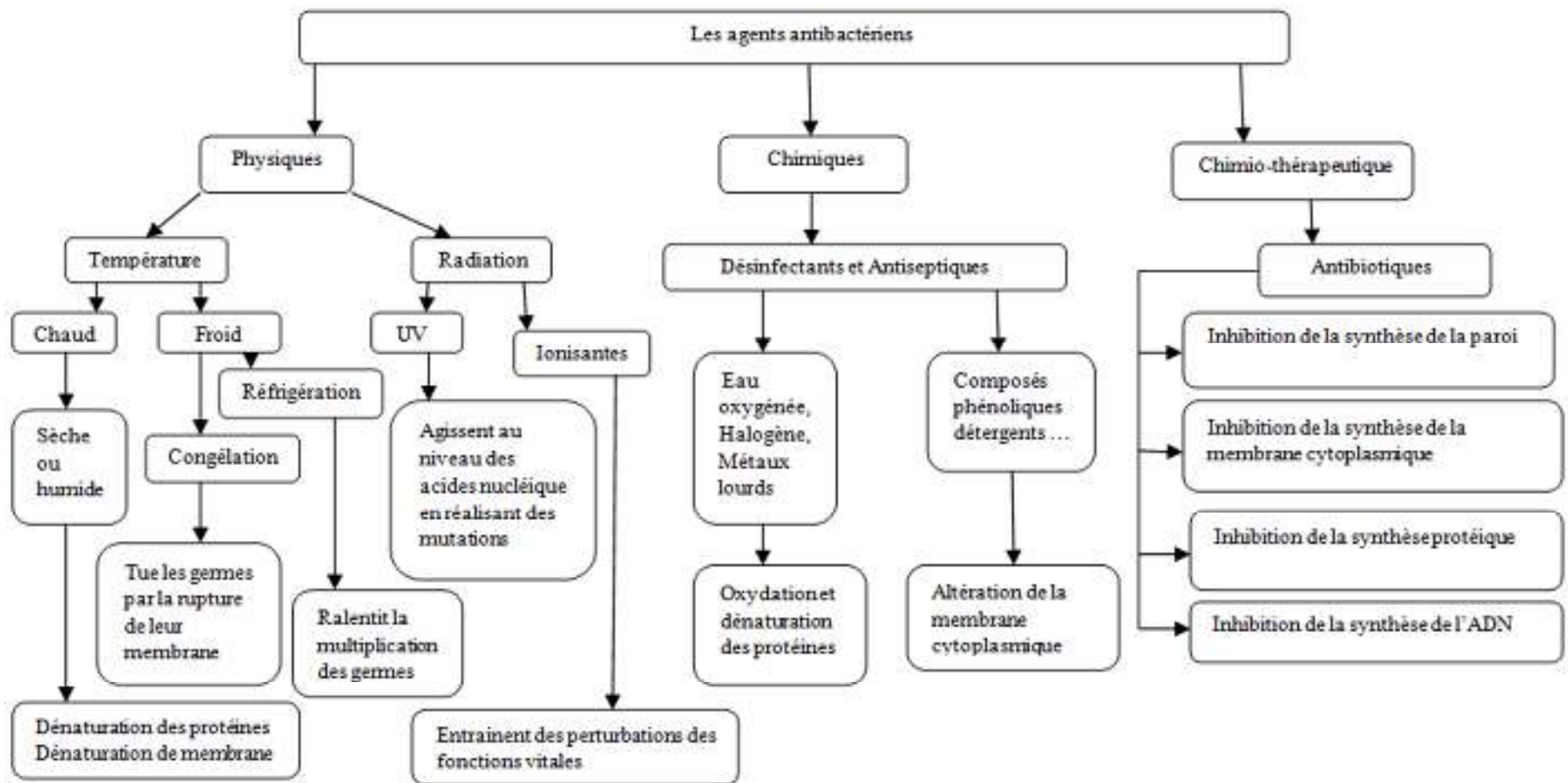


Figure 11 : Les Principaux agents antibactériens leurs mode d'action (Benkhaled et al., 2013)

Chapitre II
Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Nos travaux, ayant pour objet l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydant, antibactérienne de l'extrait méthanolique des pédicelles du palmier dattier. La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie à l'université Abbès Laghrour -Khenchela- pendant les mois du mai à juin 2021.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude (pédicelles) est d'origine de la région de Tolga (nord-est du Sahara algérien). L'identification a été faite par notre encadreur le Dr.**BoufennaraSouhil**. Les pédicelles ont été récoltés à partir de la variété de Ghars. Ces derniers ont été coupés et emmenés immédiatement au laboratoire, séchés et ensuite broyées pour passer à travers un tamis de 1 μm , puis stockées à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

I.1.2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai antibactérien sont conservées à 4°C dans des boîtes de pétre contenant le milieu solide Muller Hinton jusqu'à l'utilisation.

Microorganisme	Gram	Origine
<i>Escherichia coli</i>	-	Laboratoire pédagogique de l'université AbbèsLaghrour -khenchela-
<i>Klebsiellensp</i>	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	
<i>Bacillus subtilis</i>	+	

Tableau 7 : Souches utilisées dans l'activité antibactériennes

I.2. Produits chimiques

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits :

- Les solvants : le méthanol (CH_3OH), le chloroforme (CHCl_3)
- Les réactifs : trichlorure d'aluminium (AlCl_3), chlorure ferrique (FeCl_3), acide chlorhydrique (HCl), acide acétique glaciale ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), acide sulfurique (H_2SO_4), acide

Chapitre II : Matériel et Méthodes

formique (CH_2OH), acide acétique ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), réactifs Fehling A et B, acétate d'éthyle ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), réactif de Folin-ciocalteu, carbonate de sodium (Na_2CO_3), phosphate de sodium (NaPO_4), molybdate d'ammonium ($\text{NH}_2\text{4M07O24.4H}_2\text{O}$), sulfate ferreux (FeSO_4), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), salicylate de sodium ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NoO}_3$), (DMSO) diméthylsulfoxyde, l'eau physiologique, milieu de culture Muller-Hinton.

I.3. Appareillages

- Balance analytique avec chambre de pesée
- Agitateur magnétique
- Réfrigérateur
- Congélateur
- Evaporateur rotatif
- Etuve
- Bain-marie
- La lampe UV
- Spectrophotomètre

II. Méthode

Ce travail est divisé en deux parties :

- Partie phytochimique qui comporte :
 - La préparation de l'extrait des pédocelles de palmier dattier
 - Les tests phytochimique
 - Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes
- Partie biologique ayant pour objectif :
 - L'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait obtenu par la méthode de molybdate d'ammonium et la méthode de piégeage du radical hydroxyle (OH^\cdot).
 - L'évaluation de l'activité antibactérienne.

II.1. Préparation de l'extrait végétal

Plusieurs mode d'extraction sont utilisé en phytochimie comme : l'extraction à reflux, l'extraction sur soxhelt, la macération. Nous avons choisi le mode d'extraction par macération pour éviter les risques de dégradation ou de modification des métabolites secondaire. Cette préparation s'obtient en mettant la plante en contact à froid avec un solvant (méthanol /eau)

Chapitre II : Matériel et Méthodes

sous forme de solution hydro alcoolique. C'est le solvant le plus utilisé pour extraire des principes actifs.

Cette technique est basée sur le degré de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants organiques et leur transfert vers ce dernier.

Il est important pour l'extraction comme pour toutes manipulations effectuées sur les composés phénoliques, de travailler dans le minimum de lumière possible, du fait de leur rôle photo-protecteur. De plus, ces composés ne doivent pas être exposés à des températures trop importantes (pas plus de 40°C). Le rapport solvant/matériel végétal était de 10/1 (ml/g) (Marston et Hastmann, 2006).

II.1.1. Macération avec méthanol

L'extrait méthanolique des pédicelles de palmier dattier est préparé selon la méthode de Motamed et Naghibi (2010) avec légères modifications. 17g de poudre végétal sont mis à macérer dans 170 ml méthanol/eau (80 :20, v/v) sous agitation pendant 24 heures, à l'ombre et à température ambiante. Cette macération se fait en trois jours successifs avec renouvellement du solvant chaque 24 heures. Ceci va permettre une meilleure extraction des composés phénoliques. Après filtration par papier filtre, l'extrait récupéré est soumis à une évaporation du méthanol sous pression réduite à 40°C dans un rotavapeur pour éliminer le maximum de solvant et concentrer l'extrait. La solution obtenue est séchée pour obtenir une solution hygroscopique foncée qui est conservée à -20°C jusqu'à son utilisation.

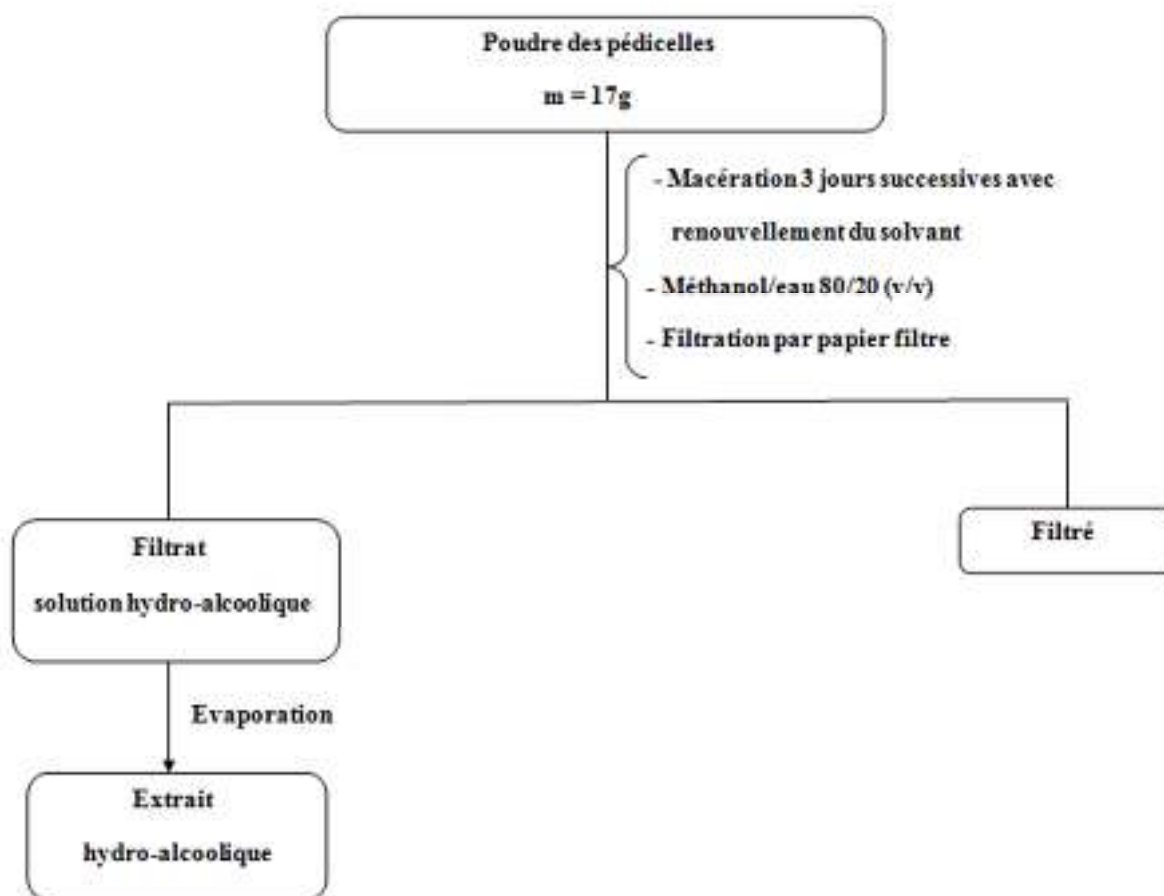


Schéma 1 : Protocole d'extraction méthanolique des pédicelles du palmier dattier

Remarque : La partie expérimentale de cette étude a été réalisée par l'utilisation de l'extrait méthanolique des pédicelles de palmier dattier.

II.1.2. Le rendement :

Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante est calculé par la formule suivante (Fellah et al., 2008) :

$$\text{Rendement}_{\text{EXT}} \% = \text{M}_{\text{EXT}}/\text{M}_{\text{MECH}} * 100$$

M_{EXT} = Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

M_{MECH} = Masse de l'échantillon végétale en g

II.2. Etude qualitative

II.2.1. Screening phytochimique

Il s'agit d'une étude qualitative visant la recherche de principales classes des flavonoïdes en se basant sur des réactions de coloration. Celle-ci est provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié et elle est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration dans une molécule (Daoudi et al., 2015).

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait méthanolique des pédicelles

- **Test des flavonoïdes :**

5 ml diluée d'une solution d'ammoniaque diluée sont ajoutée à une portion du filtrat d'une solution aqueuse de l'extrait. L'observation de la couleur jaune, et sa disparition après l'addition de quelques gouttes de l'acide sulfurique concentré, indique la présence des flavonoïdes dans l'extrait (Edeoga et al., 2005).

- **Test des tanins :**

L'apparition d'une couleur verdâtre ou bleu-noir indique la présence des tanins après l'addition de 250 µl de FeCl₃ (1%) à 1ml d'extrait suivi d'une incubation pendant 15 min à température ambiante (Benaziza, 2017).

- **Test des saponines :**

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence des saponines (Alain et al., 2011).

- **Test des anthraquinones :**

Ajoutez 1 ml de NH₄OH (10%) à 1 ml d'extrait, après agitation l'apparition d'une coloration violette indique leur présence (Benaziza, 2017).

- **Test des quinones libres :**

L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violette, révèle la présence des quinones libres dans 1 ml d'extrait avec 100 µl de NaOH à 1%(Benaziza, 2017).

- **Test des coumarines :**

1 ml de l'extrait chauffé est divisé en deux volumes égaux. Le premier représente le témoin tandis que le deuxième est traité avec 250 µl de NH₄OH à 10%. Ensuite, une goutte de chaque tube est prélevée puis déposée sur papier filtre et sous une lampe UV à 366 nm, les coumarines sont révélées par une intense fluorescence(Benaziza, 2017).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

- **Test des terpenoides :**

5 ml de la solution aqueuse de l'extrait sont ajoutée à 2 ml du chloroforme, après une simple agitation, nous avons ajouté quelques gouttes de H₂SO₄. (Muhammad et al., 2013).

- **Test des composés réducteurs :**

Dans un tube contenant 1 ml d'extrait, on ajoute 2 ml de solution Fehling (1 ml de solution Fehling A et de la Fehling B). Puis on incube le tube pendant 8 min dans un bain marie à 100°C. L'apparition d'un précipité rouge indique leur présence (Gheffour et al., 2015).

- **Test des glucosides :**

On mélange une portion du filtrat d'une solution aqueuse de l'extrait avec 1 ml de l'acide acétique glacial avec quelques gouttes de chlorure de fer et de l'acide sulfurique (concentré). L'apparition d'un précipité vert – bleu indique la présence des glucosides (Muhammad et al., 2013).

- **Test des anthocyanes :**

2 ml d'extrait a été traités avec 2 ml de HCl (2N) et quelques gouttes de NH₄OH. Un test positif sont révélées par une coloration rose–rouge qui vire au bleu violacée (Mellouk, 2013).

II.3. Etude quantitative

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Principe :

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton V.L et al., 1999). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro-polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro-polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu (Daels-rakotoarison, 1999).

Protocole :

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965) en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µl d'extrait a été ajouté avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10fois et 800 µl

Chapitre II : Matériel et Méthodes

d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme témoin à différentes concentrations.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes :

Principe :

Le dosage des flavonoïdes est réalisé à l'aide de la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude et il forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm selon la méthode décrite par (Kim *et al.*, 2003).

Protocole :

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Kim *et al.*, 2003) avec quelques modifications. Dans des tubes à hémolyses en verre, un volume de 500 µl d'extrait a été ajouté avec un volume de 1500 µl d'eau distillée. A temps zéro, 150 µl de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5% (dissout dans l'eau distillée) sont ajoutés. Après 5 min, 150 µl d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% (dissout dans le méthanol) sont additionnés. Ensuite, après 11 min, 500 µl de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1 M sont ajoutés. Le mélange est agité vigoureusement au Vortex. La lecture de l'absorbance est effectuée immédiatement à 510 nm. Une gamme d'étalon est réalisée avec la catéchine.

Les résultats sont exprimés en µg d'équivalents de catéchine par gramme d'extrait (µg EC/mg d'extrait).

II.4. Activités biologiques

II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydant

II.4.1.1. La capacité antioxydant totale (TAC) par la méthode au molybdate d'ammonium

Principe

La capacité antioxydant totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réaction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄²⁻ à molybdène MO (V) MoO⁺² en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo (V) à pH acide (Prieto *et al.*, 1999).

Protocol

Un volume de 0,3 ml de l'extrait méthanolique est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate

Chapitre II : Matériel et Méthodes

d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0,3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydant totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche ($\mu\text{g EAA/ mg MS}$) (Prieto *et al.*, 1999).

II.4.1.2. Piégeage de radical hydroxyle (OH^\cdot)

Principe

Le radicale hydroxyle (OH^\cdot) est un radicale libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques (Castro et Freeman, 2001). Ce radicale possède un électron libre avec un potentiel de réduction plus élevé (2310 mV) (Siddhuraju et Becker, 2007). L'évaluation du pouvoir piègeur des extraits de plantes contre ce radical est alors d'une importance considérable.

Protocole

Le protocole expérimental suivi est celui de Wang *et al.* (2008). Le mélange réactionnel de 3 ml est constitué de 1 ml de FeSO_4 à 1.5 mM, 0.7 ml de H_2O_2 à 6mM, 0,3 ml de salicylate de sodium à 20 mM et de différentes concentrations de l'échantillon. Après incubation à 37 °C pendant 1 heure, l'absorbance du complexe salicylate hydroxylé est mesurée à 562 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

$$\% \text{ de piégeage} = [1 - (A1 - A2) / A0] \times 100$$

A0 : Absorbance du contrôle négatif

A1: Absorbance du test effectué

A2: Absorbance de l'échantillon sans salicylate de sodium

II.4.2. Activité antibactérienne

II.4.2.1. Etude qualitative de l'effet antibactérienne

Dans cette partie, nous recherchons des composés antibactériens contenus dans les pédicelles des dattes. Nous avons adoptés la technique d'aromatogramme ou méthode de diffusion en milieux gélosés sur boites de pétri ou encore méthode de disque, en utilisant des disques stériles en papier Wattman n°3.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Principe

La méthode de diffusion en milieu gélosé est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des bactéries vis-à-vis d'une substance réputée antibactérienne. Le principe de cette méthode est tiré à partir du titrage des antibiotiques « **pharmacopée Européenne, 2002** »

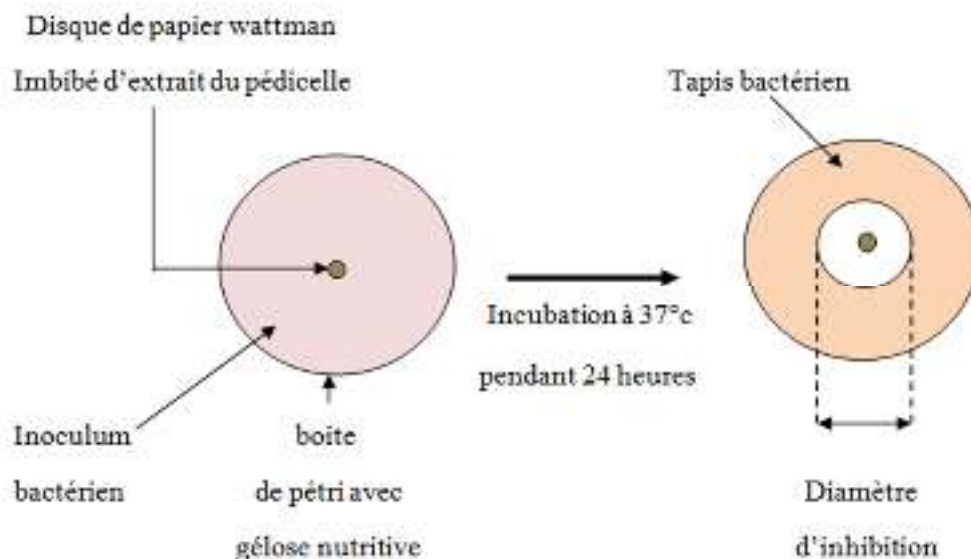


Figure 12: Principe de la méthode de diffusion sur disques

Protocole

- **Préparation de la couche de milieu de culture**

On fait fondre le milieu Muller-Hinton dans un bain marie à 90°C, après on verse aseptiquement une couche de milieu dans les boîtes de pétri, on laisse refroidir et solidifier sur paillasse.

- **Repiquage des espèces bactériennes**

Les différentes espèces bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiellasp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose Muller-Hinton, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture jeune de 24 heures on réalise des suspensions en prélèvent 4 colonies bien isolées et identiques, qu'on dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite vigoureusement au Vortex. On fait une lecture de la concentration de la suspension à

Chapitre II : Matériel et Méthodes

l'aide d'un spectrophotomètre la transmittance doit être comprise entre 22 et 32 % pour les bactéries à une longueur d'onde de 620 nm (Ait chaouche, 2015). La densité a été ajustée à 0,5 Mack Ferland (DO= 0,08-0,10 lue à 620 nm).

- **Ensemencement**

Les milieux sont ensemencés avec un écouvillon stérile qui trempé dans la suspension bactérienne, l'ensemencement doit se fait en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum, l'opération est répété deux fois en tournant la boîte de pétrie 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, on finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- **Préparation de l'extrait**

Pour l'étude de l'activité antibactérienne l'extrait brut des pédicelles est employé dans une solution (1mg/ml) (solution mère) de l'extrait dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), une dilution en série de cette solution mère, permet d'obtenir diverses solutions filles (réalisation d'une gamme de concentrations de 1/2, 1/4), un disque imbibé par le DMSO a été employé en tant que contrôle négatif (Ghedadba et al., 2015).

- **Dépôt des disques**

A aide d'une micropipette, on prélève 20 µl de chaque concentration dépose chaque quantité prélevés sur les disques (6mm de diamètre), posé préalablement à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose ensemencée, on fait une incubation à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture des résultats :**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en mm, les expériences ont été réalisées en trois répétitions.

Type d'inhibition	Zone d'inhibition
Non inhibitrice	Diamètre <10 mm
Légèrement inhibitrice	10 mm ≤ diamètre < 16 mm
Modérément inhibitrice	16mm ≤ diamètre < 28mm
Fortement inhibitrice	Diamètre ≥ 28 mm

Tableau 8: type d'inhibition des souches microbiennes en fonction des diamètres de la

Chapitre II : Matériel et Méthodes

zone d'inhibition (Meena et Sethi 1994; Ela et *al.*, 1996).

II.5. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en trois répétitions à l'exception de l'activité antibactérienne qui a été faite en doublet. Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm (déviation standard (n=3)).

Chapitre 3
Résultats et discussion

Résultats et discussion

I. Rendement de l'extrait des pédicelles

L'extrait des pédicelles des dattes après évaporation sous pression a été pesé pour déterminer le rendement. Le rendement de l'extrait méthanolique a été reporté dans le tableau 9 :

Tableau 9: Caractéristiques de l'extrait méthanolique des pédicelles

Aspect	Couleur	Rendement %	Solubilité
Hygroscopique	Marron	18,70	Méthanol/eau (80/20)

Le tableau 9 renferme les caractéristiques de l'extrait des pédicelles des dattes. Les résultats montrent que l'extrait récupérés présent une couleur marron et sous forme de pate hygroscopique, leur solubilisation se ferait dans le mélange méthanol/eau distillée. Concernant le rendement l'extrait récupérés présent un rendement de 18,70 %.

L'ensemble des résultats de l'extraction des pédicelles des dattes montrent que l'extrait récupéré présent un rendement acceptable.

Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent les activités biologiques et tous le contenu total en phénols et flavonoïdes (Lee et al., 2003).

Dans la présente étude, la méthode d'extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Il est difficile de comparer les résultats des rendements avec ceux de la bibliographie car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee et al., 2003).

II. Résultats de l'étude qualitative

II.1. Tests phytochimiques

Le screening phytochimique contribue à la mise en évidence de la présence ou l'absence de différentes classes des métabolites secondaires dans notre extrait. La détection de ces

Résultats et discussion

composés est basée sur des essais de solubilité de turbidité et de changement de coloration ou des examens sous lumière ultraviolettes.

Les résultats de l'examen phytochimiques réalisés dans l'extrait des pédicelles des dattes sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 10: Screening phytochimique de l'extrait des pédicelles des dattes

Classes recherché	Résultat trouvé
Flavonoïdes	(+)
Tannins	(++)
Saponines	(-)
Anthraquinones	(-)
Quinones libre	(+)
Coumarines	(+++)
Terpenoïdes	(+++)
Composés réducteurs	(+++)
Glucosides	(+)
Anthocyanes	(-)

(-) : test négatif ; (+) : test faiblement positif ; (++) : test positif ; (+++) : test fortement positif.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau n° 10, on remarque une forte présence de coumarines, terpenoïdes et des composés réducteurs. En revanche une faible présence des flavonoïdes, quinones libre et glucosides et une absence totale de saponines des anthraquinones et des anthocyanes dans notre extrait.

Résultats et discussion

III. Résultats de l'étude quantitative

III.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique au moyen des dosages spectrophotométrique, avaient pour objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

Deux courbes d'étalonnage (**Annexes 2**) ont été utilisées pour cet objectif, une réalisée par l'acide gallique et l'autre par la catéchine. La quantité de polyphénols et flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent de l'étalon.

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont mentionnées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 11: Teneurs des polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique des pédicelles

Concentration de l'extrait méthanolique des pédicelles (mg/ml)	100 mg/ml	80 mg/ml	60 mg/ml	40 mg/ml	20 mg/ml
Teneur en polyphénols $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait	55,517 \pm 0,030	37,140 \pm 0,004	20,385 \pm 0,013	3,631 \pm 0,011	0,868 \pm 0,002
Teneur en flavonoïdes $\mu\text{g EC/mg}$ d'extrait	1,037 \pm 0,003	0,827 \pm 0,010	0,401 \pm 0,004	0,073 \pm 0,001	0,022 \pm 0,0005

*Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures \pm SD

On remarque que le teneur en phénols et en flavonoïdes est proportionnel à la concentration de l'extrait.

Les résultats des dosages en polyphénols et flavonoïdes montrent que l'extrait des pédicelles des dattes a permis d'enregistrer une teneur de 55,51 \pm 0,03 $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait et 1,03 \pm 0,003 $\mu\text{g EC/mg}$ d'extrait respectivement pour les polyphénols et les flavonoïdes. On

Résultats et discussion

constante que notre extrait est riche en polyphénols. Cependant, il représente un teneur faible en flavonoïdes.

Le profile polyphénolique des extraits des plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété, le climat, la localisation géographique (Ryan et al., 1999 ;Anusuya etManian, 2013), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (Perron et Brumaghim, 2009), la température et le solvant d'extraction (Sousa et al., 2006 ; Conde et al., 2009).

IV. Evaluations des activités biologiques

IV.1. Evaluation de l'activité antioxydant

IV.1.1. Résultats du test de la capacité antioxydant totale (TAC) par la méthode au molybdate d'ammonium

La figure 13 rapporte les résultats obtenus du pouvoir antioxydant testé par la méthode au molybdate d'ammonium de l'extrait brut à différente concentrations des pédicelles des dattes.

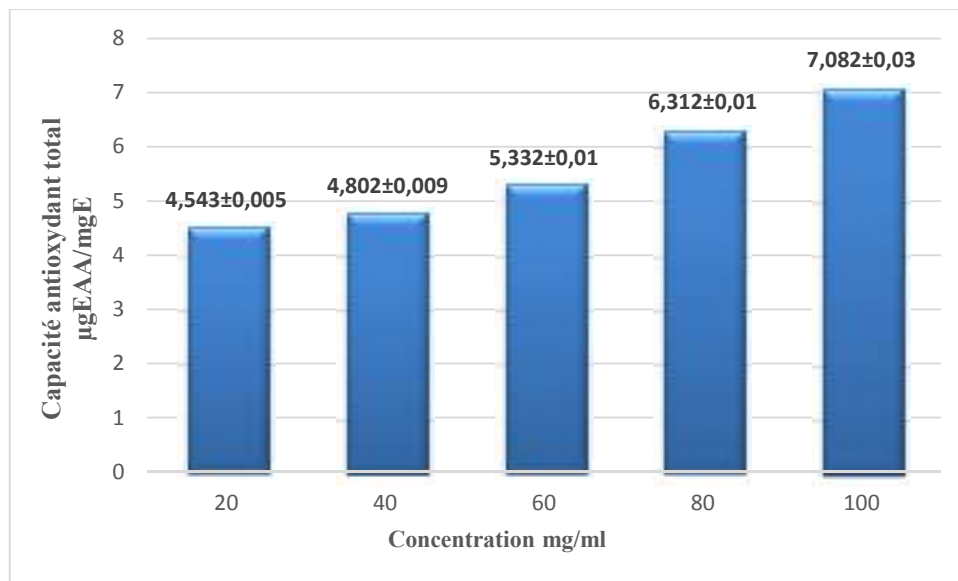


Figure 13 : Capacité antioxydant totale de l'extrait méthanolique des pédicelles testée

La capacité antioxydant totale a été déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire d'une courbe d'étalonnage exprimée en µg équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait sec (µg EAA/mg E).

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique des pédicelles a représenté une capacité antioxydant remarquable.

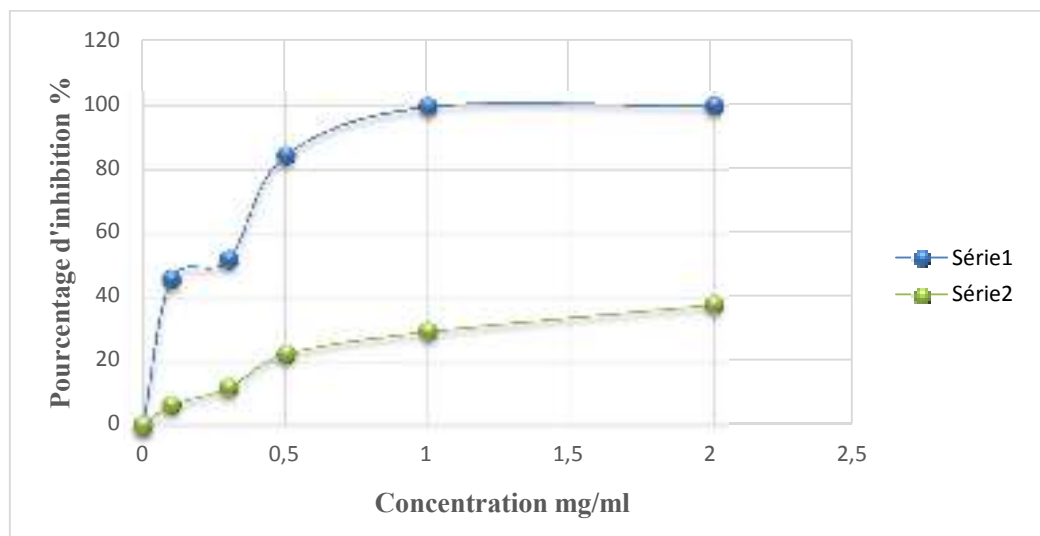
Résultats et discussion

Le teste du Phosphomolybdate est une variante des autres tests. Aucours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vert le complexe oxydant. Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant.

Le test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'échantillon. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (Phosphate/Mo (V)) à un pH acide. On mesure la diminution de la coloration du complexe verdâtre (VI) en présence d'antioxydant. A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydant des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (Prieto et *al.*, 1999).

IV.1.2. Résultats du test de piégeage de radical hydroxyle (OH[•])

La figure 14 rapporte le pouvoir de l'extrait méthanolique des pédicelles des dattes vis-à-vis du piégeage du radical hydroxyle.



Série 1 : Acide ascorbique ; Série 2 : Extrait méthanolique des pédicelles des dattes

Figure 14 : Pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des pédicelles

A partir des graphes de la **figure 14**, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique des pédicelles présente un pouvoir antioxydant inférieur à celui des contrôle positif (acide ascorbique) avec des pourcentages du piégeage de l'ordre de 6,3% ; 11,7% ; 22,2% ; 29,3% ; 37,7% respectivement des concentrations du 0,1 à 2 mg/ml.

Résultats et discussion

L'acide ascorbique a exprimé un pouvoir antioxydant plus important avec des pourcentages du piégeage de l'ordre de 45,5% ; 51,7% ; 84,2% ; 99,4% ; 99,7% respectivement des concentrations du 0,1 à 2 mg/ml.

IV.1.2.1. Calcul de IC₅₀

L'IC₅₀ est un paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical (OH[·]). Plus la valeur de IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

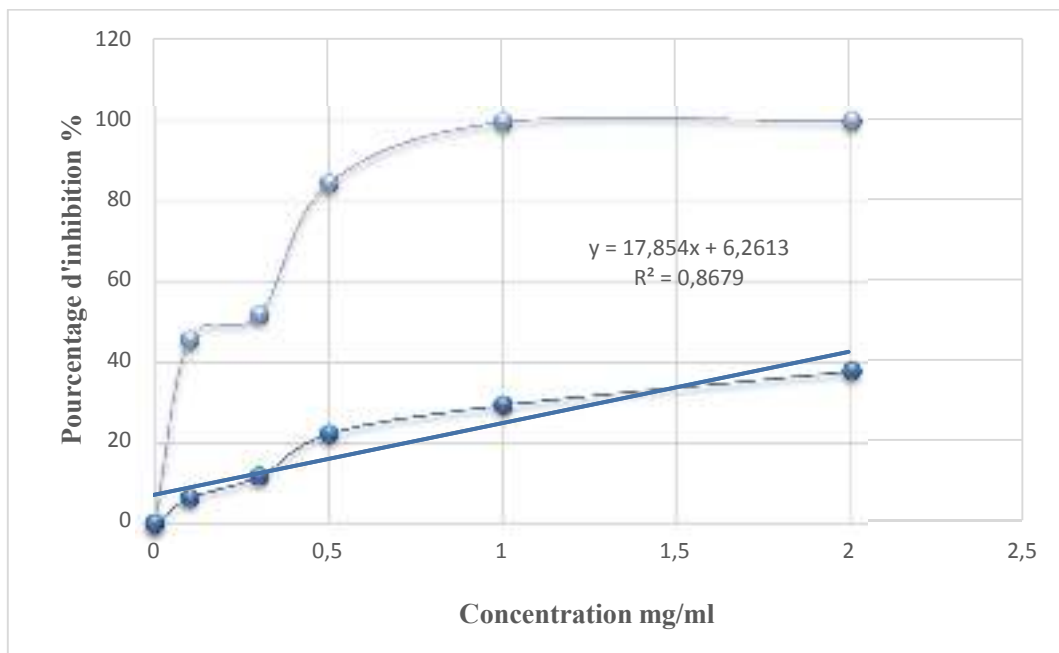


Figure 15 : Pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des pédicelles du palmier

L'IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %) appelée aussi EC₅₀ (Efficient concentration 50), concentration de l'extrait ou du standard qui permet la réduction de 50 % de DPPH. L'IC₅₀ a été calculé graphiquement par le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait testé (Molyneux, 2004). Une faible valeur de l'IC₅₀ indique une forte activité antioxydant (Saffidine, 2015).

A partir du graphe illustré dans la **figure 15**, nous pouvons calculer la concentration IC₅₀ pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant. Nous constatons une concentration d'IC₅₀ égale à 2,465 mg/ml.

Résultats et discussion

Ce pouvoir antioxydant de l'extrait peut être expliquée par leur teneur en polyphénols et flavonoïdes qui sont considérés comme d'excellents antioxydant dont les propriétés oxydo-réducteurs leurs permettent d'agir comme les agents réducteurs.

IV.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait vis-à-vis de quatre souches bactériennes après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

IV.2.1. Résultats de l'antibiogramme

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des extraits méthanolique à différentes concentrations sur les souches bactériennes sont reportés sur le tableau suivant :

Tableau 12: Diamètre des zones d'inhibition (en mm) de l'extrait des pédicelles des dattes

Souches bactériennes	Concentrations de l'extrait méthanolique des pédicelles mg/ml			Contrôle négatif
	1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,25 mg/ml	
<i>Escherichia coli</i>	9,89±0,02	8,17±0,03	7,64±0,05	6
<i>Klebsiellensp</i>	9,21±0,01	8,4±0,01	6,43±0,03	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,84±0,03	9,42±0,03	7,28±0,03	6
<i>Bacillus subtilis</i>	8,06±0,04	7,49±0,02	6,09±0,05	6

DMSO : Diméthylsulfoxyde, les valeurs représentent la moyenne de deux mesures ±SD

Résultats et discussion

Tableau 13: Profil de sensibilisation des souches bactériennes vis-à-vis de l'extrait testé

Souches bactériennes	Concentrations de l'extrait méthanolique des pédicelles (mg/ml)		
	1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,25 mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-
<i>Klebsiell spp</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-

(-) : Résistante ; (+) : Légèrement sensible ; (++) : Sensible ; (+++) : Très sensible

Le tableau 13 renferme le profil de sensibilisation de bactéries testées. D'après ces résultats, on constate que le diamètre de la zone d'inhibition change selon la souche bactérienne utilisée. On note une sensibilité très faible des souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de l'extrait testé.

Aucune activité antibactérienne n'a été remarquée à la concentration 0,5 mg/ml et 0,25 mg/ml. Ce résultat peut être expliqué par l'insuffisance de la concentration des principes actifs dans le volume de l'extrait étudié (Ladhem, 2016). Par ailleurs, à la concentration de 1 mg/ml, l'activité antibactérienne peut être considérée comme faible pour les souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

La sensibilité des souches bactériennes est en relation avec le nombre des hydroxyles libres (Zeghad, 2009 ; Cowan, 1999). Les flavonoïdes dépourvus des groupements hydroxyles libres ont plus d'activité antibactérienne par rapport à ceux qui ne sont pourvus.

Conclusion

Conclusion

En tant que métabolites secondaires des plantes, les polyphénols représentent un groupe important en diversifié de substances bioactifs, constituant une source inépuisable, puisque seule et une petite partie des 400 000 espèces végétales connues ont été explorées sur le plan phytochimique et pharmacologique (**Hostettmann et al., 1998**).

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris notre étude qui vise à la caractérisation phytochimique de l'extrait des pédicelles de l'espèce *phonix dactylifera L*, et à la recherche de l'activité biologique, à savoir les activités antioxydant et antibactérienne.

Les résultats obtenus de criblage phytochimique de l'extrait méthanolique montrent la richesse des pédicelles de la plante en métabolites secondaires, notamment les coumarines, les terpénoïdes et les composés réducteurs.

Le dosage colorimétrique a permis la quantification des polyphénols et des flavonoïdes des pédicelles des dattes. En adoptant les méthodes de Folin-Ciocalteu et de Trichlorure d'aluminium, les résultats obtenus permettent de constater que les pédicelles constituent une source importante de polyphénols avec une teneur de $55,51 \pm 0,03 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait.

Concernant l'activité antioxydant par le test de piégeage du radical hydroxyle (OH^\cdot), les résultats trouvés montrent un pourcentage d'inhibition élevé (37,7%). Ce pouvoir de réduction et d'élimination de radicaux libres de l'extrait serait lié à la teneur en polyphénols et flavonoïdes.

L'étude du pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion de disque par rapport à deux souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* a montré une légère sensibilité à l'extrait méthanolique.

A la lumière de ces résultats il serait intéressant de réaliser d'autres recherches qui s'intéressent à :

- ✓ Utilisation d'autres méthodes d'extraction avec autres solvants organiques, sur d'autres parties de la plante.
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydant par d'autres méthodes *in vitro*.
- ✓ Recherche d'autres activités biologiques, telles que l'activité antidiabétique, anticoagulant, antipyrétique.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographique

A

- **Abderrazak M., Joël R.** (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177 p.
- **Absi R.** (2012). Analyse de la diversité variétale du palmier dattier (*Phoenixdactylefera L*) cas des Ziban. (Région de Sidi Okba). Mémoire de magister en sciences agronomiques. Université de Biskra. 10 p.
- **Ahsan H., Ali A., Ali R.** (2003). Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clinical and Experimental Immunology*, 131,398-404 p.
- **Aissous A.,Bechara R.** (2016). Caractéristique et activité biologiques d'extrait brut hydroalcoolique des graines de *Lepidium sativum*. Master en biochimie moléculaire et santé. Université des Frères Mentouri-Constantine.16.18 p.
- **Ait chaouche F.** (2018). Composition chimique et activité antioxydant, antimicrobienne et insecticide des huiles essentielles et des extraits de deux *Lamiaceae*. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole nationale supérieure agronomique (ENSA). El-Harrach-Alger.74 p.
- **Akroum S.** (2011). Étude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine. 18 p.
- **Alain dit philippe Bide., Benga B., Adou F.**(2011). Activités antioxydants de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Science et Nature*, 8, 1,1-11 p.
- **Al-Bakr A.** (1972). The date palm, a review of its past and present status and its culture, industry and trade. Edit. Alaiñ Press, Iraq (en arabe).1405.
- **Al-Alawi R., Al-Mashiqri J.H., Al-Nadabi J.S.M., Al-Shihi B.I., Baqi Y.**(2017). Date palm tree (*Phoenix dactylifera L.*): Natural products and therapeutic options. *Frontiers in Plant Science* 8, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00845>
- **Anusuya N. and Manian S.** (2013). Antioxidant and free radical scavenging potential of different solvent extracts of *Indigoferatinctoria l.* leaves. *International Journal of Pharma-cy and Pharmaceutical Sciences*. 1, 142-147 p.

B

- **Babahammi A.**(2014). Caractérisation de la biomasse microbienne développée dans un compost issue des déchets du palmier dattier. Mémoire de master. Université KasdiMerbah, Ouargla
- **Beckman K.B., Ames B.N.**(1998). The Free radical theory of aging matures. *PhysiologicalReviews*, 78(2), 547-581 p.

Références Bibliographique

- **Belguedj M.** (2002). Les ressources génétiques du palmier dattier : Caractéristiques des cultivars dans les palmeraies du Sud-est Algérien. 3D. Dossier n°1, INRAA; Alger. 9-10 p.
- **Benaziza A.** (2017). Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydant des extraits de feuilles et de cones de *Pinushalepensis* (Pin d'Alep). Mémoire de Master en biochimie. Université de Tlemcen.22.23 p.
- **Benbrinis S.** (2011).Evaluation des activités de *santolinachamaecyparissus*. Mémoire de Magister en Biochimie Université Ferhat Abbes. Setif-Algérie. 3 p.
- **Ben Chibane T.** (2013).Détermination de l'activité antioxydant de deux céréales ; blé dur et blé tendre. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. Option contrôle de qualité et analyse. Université de Bejaia, Algérie. 39 p.
- **Bendahou A.,DufresneA.,Kaddami H., Habibi Y.**(2007) Carbohydrate polymers, 68, 601-608)
- **Benkadi S.** (2013). Le savoir-faire traditionnel dans le domaine de l'utilisation des produits de palmier dattier (*Phoenixdactylifera L.*) (Cas de la région de Ouargla).Mémoire Ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques. UniversitéKasdiMerbah - Ouargla.
- **Ben Saleh M.**(2014). Le recyclage des sous-produits des oasis : acquis et perspectives.
- **Ben Mbarek S., Deboub I.** (2015). Valorisation des sous-produits du palmier dattier et leurs utilisations Approche expérimentale pour une production durable de compost. Thèse doctorat. UniversitéEchahidHamma Lakhdar d'El-Oued.
- **Bezato T.Z.F.** (2013). Les palmiers dattiers « *phoenixdactylifera* » à toliara : étude de la filière, utilisation et diversité variétale. Memoire de diplôme d'eutdeaprofondie. Université de Toliara
- **Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O.** (2012). Oxidative stress and antioxi-dant defense. *World Allergy Organization Journal*. 5(1), 9-19 p.
- **Biaye M.** (2002). Action pharmacologique des tannins. Docteur en Pharmacie. Université Cheikh AnataDiop de Dakar. 26 p.
- **Bourgaud F., Hehn A., Larbat R., Doerper S., Gontier E., Kellner S., Matern U.** (2006). Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unraveled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem. Rev.* 5: 293–308. paris. 1120.

Références Bibliographique

- **Boudjouref M.**(2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisiacampestris L. Thèse pour l'obtention du Magister en Sciences, spécialité : Biochimie appliquée. Sétif, Université Ferhat Abbes, 64p.
- **Boufennra S., Bouazza L., Medjekal S., Rahali K., Mateos I., Ranilla MJ., Secundino L.** (2019). Composition and digestibility of pedicels and palm leaves as a source for livestock feeding by in vitro and in situ techniques. In [en ligne], n°4.vol.9.2019.5 p. disponible sur WWW.rangeland.ir: (consulté le 28/11/2018).
- **Bonnefont-Rousselot D., Peynet J., Beaudeau J.L., Thérond P., Legrand.A., Delattre J.**(2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16, 260-267 p.
- **Bruneton J.** (1999).Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier.Paris. 227.310.1120.
- **Bruneton J.**(1993). Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier. 278 – 279p.
- **Buchanan B., Gruissem W., Jones R.**(2000). American Society of Plant Physiologists, chapitre 24, 1250-1318.

C

- **Castro L., Freeman B A.**(2001). Reactive oxygen species in human health and disease.Nutrition. (170): 161-165 p.
- **Causse C.** (2005).Les secrets de santé des antioxydants. Plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Alpen Editions-Monaco. 16.17.18.20.24 p.
- **Césarini J.** (2004).Le sélénium actualités. Ed. John LibbeyEurotext-Paris. 1 p.
- **Chaibi N.**(2002). Potentialités androgénétiques du palmier dattier *Phoenixdactylifera*L et culture in vitro d'anthères. Biotechnologie Agron. Soc. Environ., 6 (4), 201 p.
- **Chan K.L.** (2003). Role of nitric oxide in ischemia and reperfusion injury. *CurrentMedicinal Chemistry*,1, 1-13 p.
- **Chehma A., Longo H.F.**(2001).Valorisation des sous-produits du palmier dattier en vue de leur utilisation en alimentation du bétail. Revue des énergies renouvelables »U.N.E.S.C.O », Numéro spécial ; Biomasse : production et valorisation, 59. 207 p.

Références Bibliographique

- **Chu W.L., Lim Y.W., Radhakrishnan A.K., Lim P.E.** (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 10(53), 2-8 p.
- **Collin S., Crouzet J.** (2011). Polyphénol et procédés. Lavoisier. Paris. 5.11.16 p.
- **Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E. and Dominguez H.** (2009). Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*. 114 (3), 806 -812 p.
- **Cordell G.A., Colvard M.D.** (2005). Some Thoughts on the Future of Ethnopharmacology.
- **Cowan M.M.** (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582 p.

D

- **Daglia M.** (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1-8 p.
- **Daels-rakotoarison D.**(1999). Extraits polyphénoliques d'aubépine, de cola et d'églatier. Thèse de doctorat. Université de Lille II. France., 172 (64).
- **Daoudi A., Sabiri M., Bammou M., Zair T., Ibijbijen J., Nassiri L.** (2015). Volatilisation des extraits de trois espèces de genre *Urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences* 87 : 8094-8104.
- **Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot.**(2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Edition Lavoisier TEC & DOC éditions Médicales Internationales*, Paris, 14, 93, 94 p.
- **Dia O.** (2019). Optimisation de l'extraction des polyphénols de (*Phoenix dactylifera*) L par différents solvants et méthodes. Thèse de doctorat en génie des procédés université d'Ouargla. 9 p.
- **Djafour S., Khabbez A., Khouildi Z.** (2005). Contribution à l'étude de la composition biochimique des dattes Dégelet-Nour dans le pédocosmétique de la cuvette d'Ouargla. Etude supérieure en biologie. Université Kasdi Merbah – Ouargla.
- **Djerbi M.**(1994). Précis de phoenicicultureurs. FAO, 192 p.

Références Bibliographique

E

- **Edeoga H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O.**(2005). Phytochemical constituents of somenegerian medicinal plants. *Afr. J. Biotechnol.*, 4(7):685-688 p.
- **Ela M.A., El-Shaer N.S., Ghanem N.B.** (1996).Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Die Pharmazie*, 51(12): 993-994 p.
- **Espiard E.** (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc- Lavoisier, France, 360 p.

F

- **Favier A.** (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*.6, 108-115 p.
- **Famsworth N.R., Arkerlele O., Bingel A.S., Soejarto D.D., Guo Z.** (1985).Bull.WHO P.63.965-981 p.
- **Fellah H., Ksouri R;,chaieb K;, Karray-bouraoui N;, Boulaaba M., Abdelly C.** (2008). Phenolic composition of *cynaracardunculus L* organs, and their biological activités, C.R Biologies. (331). 372-379 p.
- **Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M.** (2001).The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*. 39: 153-162 p.

G

- **Garomouche N., Boutali A.** (2008). Fractionnement et caractérisation de fibre de datte (variétés : deglabieda, mechdegla, et haloua). Mémoire de fin d'études en Science Agronomique. Ecole national supérieur Agronomique. ElHarrach. Algérie.8 p.
- **Ghedadba .N., Hamabab .L., Ayachi.A., Aberkane.M.C., Bousselfa.S., Oueld-Mokhtar.S.M.** (2015). Polyphénols totaux, activité antioxydant et antimicrobienne des extraits des fruits de *Marrubiumdeserti* de Noé. Lavoisier.
- **Ghastem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M.** (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2 èmeEd. Cited in DjelaiZouglache S

Références Bibliographique

- **Gheffour K., Boucherit K., Boucherit-Otmani Z.** (2015). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinopsspinosus*. *Phytothérapie*, 13(5), 288-294 p.
- **Goeptar A.R., Scheerens H., Vermeulen N.P.** (1995). Oxygen and xenobiotic reductase activities of cytochrome P450. *Critical Reviews in Toxicology*, 25, 25-65 p.
- **Goudable A., Favier D.** (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 11.5 p.
- **Gülçin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A., Elias R.** (2006). The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hederacolchica*: 3-O-(β -D glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research*, 20, 130-134 p.
- **Guzik T J., Korbut R., Adamek-Guzik T.** (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 54(4), 469-487.

H

- **Hamza K., Meziani A.** (2015). Etude de l'activité biologique de l'extrait aqueux des feuilles de *Zizyphus lotus L.* Mémoire de master en biochimie moléculaire et sante. Université des Frères Mentouri-Constantine. 13.18 p.
- **Halimi H.** (2004). La caractérisation des palmiers dattiers mâles dans la région d'Ouargla en vue d'une sélection qualitative, Université de Ouargla, 147 p.
- **Hellal Z.** (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardine pilchardus*). Mémoire de magister en biochimie appliquée et biotechnologie. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- **Hitara T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M., Hongo D.** (2009). Identification and physiological evaluation of the components from *Citrus* fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17: 25- 28 p.
- **Houari O.** (1992). Situation du patrimoine phoenicicole et marché de la datte. Symposium de la datte Biskra. 1992
- **Hubert R.** (1998). Biochimie de l'aliment, acides aminés et oligopeptides ENSIA.

Références Bibliographique

I

- **Idder-Ighili H.**(2008).Interactions entre la pyrale des dattes *Ectomyeloisceratoniae*Zeller (Lepidoptera-Pyralidae) et quelques cultivars de dattes dans les palmeraies de Ouargla. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah – Ouargla
- **Itas Institut Technique de Développement de L'agronomie Saharienne.** (2005).Recueil de fiches techniques.90-91 p.
- **Ito C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruabgrungsi N., Okuda T., Tokuda H., Nishino H., Furukawa H.** (2005). Chemical constituents of *Murrayasiamensis*: three coumarins and their anti- tumor promoting effect. *Phytochemistry*66: 567 -57 p.

J

- **Jabot G.** (1994).Antioxydants et vieillissement. Ed. John Libbey Eurotext-paris.34.38.39 p.
- **Jacques Macheix J., Fleurie., Jany-Allemand Ch.**(2005). Les composés phénoliques des végétaux .presses phytochimique et universitaires Romande.centre Midi. Lausanne-Italie. 3.6.7 p.
- **Jaradat A.A.**(2015). Biodiversity, Genetic Diversity, and Genetic Resources of Date Palm, in: Date Palm Genetic Resources and Utilization: Volume 1: Africa and the Americas. Springer Science, 1-546 <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9694-1>

K

- **Kerio L.C.,Wachira F.N., Wanyoko J.K., Rotich M.K.**(2012).Characterization of anthocyaninsinKenyan teas: Extraction and identification. Food Chemistry. 131(1), 31–38 p.
- **Kim D.O., Chun O.K., Kim Y. J., Moon H.Y., Lee C.Y.**(2003).Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. J. Agric. Food Chem., , Vol. 51(22); 6509 6515.
- **Koechlin-Ramonatxo C.** (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases, *NutrClinMetab*, 20, 165-177 p.
- **Kong J.M., Chia L.S., Goh N.K., Chia T.F., Brouillard R.** (2003). Analysis and biological activitiesofanthocyanins. *Phytochemistry*. 64(5), 923–933.

Références Bibliographique

L

- **Ladhem H.** (2016). Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux de *Tetraclinis articulata* (Thuya de Berbérie). Mémoire de Master, option sciences des aliments. Université de Tlemcen, Algérie. 1. 22.52 p.
- **Laouini S.** (2014). Etude phytochimique et activité biologique d'extrait des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse de doctorat en chimie industrielle. Université de Biskra. 10 p.
- **Lee J., Koo N., Min D.B.** (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3 (1), 21-33 p.
- **Lee K. W., Kim Y.J., Lee H.J. and Lee C.Y.** (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7292-7295.
- **Lismont C., Nordgren M., Van Veldhoven P.P., Fransen M.** (2015). Redox interplay between mitochondria and peroxisomes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 3, 1-19 p.
- **Lobstein A.** (2010). Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, 3-25 p.
- **Loft S., Møller P., Cooke M.S., Rozalski R., Olinski R.** (2008). Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker. *European Journal of Nutrition*, 47 (2): 19- 28 p.
- **Lutge U., Kluge M., Bauer G.** (2002). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Paris. 211 p.

M

- **Manallah A.** (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire de Magister. Option biochimie appliquée. Université Farhat Abbas-Sétif-Algérie. 1.15.20.29.30.77. 86 p.
- **Marc T., Gerard W., Denis L.** (2001). Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels para médicaux. 4ème Edition. 426 p.
- **Marston A., Hosttmann K.** (2006). Separation and quantification of Flavonoids. In "Flavonoids: chemistry, Biochemistry and Applications. Taylors and Francis: 1-36 p.

Références Bibliographique

- **Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C.**(2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes. 1, 4-5 p.
- **Masquelier J., Dumon M., Dumas J.** (1979). Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique* 1, 101-104 p.
- **Madarp.** (2017). Ministère de l'agriculture et du développement rural et de la pêche, Les statistiques agricoles.
- **Madjour.S.** (2014). Etude pharmacologique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *Rosmarinus officinalis*. Master en Chimie pharmaceutique. Université Med Khider-Biskra. 51 p.
- **Mesáros N., Bambeke F.V., Avrain L., Glupczynski Y., Vanhoof R., Plesiat P., Tulkens P.M.** (2005). L'efflux actif des antibiotiques et la résistance bactérienne : état de la question et implications. La lettre de l'infectiologue. Tome xx-n°4.
- **Mellouk K.** (2013). Etude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezze) de la région de Biskra. Mémoire de Master. Option alimentation et nutrition. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen-Alérie. 57 p.
- **Meena, M. R., Sethi, V. I.** (1994). Antimicrobial activity of essential oils from spices. *Journal of food science and technology. Mysore*, 31(1): 68-70 p.
- **More D, White J.** (2005). Encyclopédie des arbres . Flammarion. Grand-Bretagne. 777 p.
- **Morel F., Rousset F., Chuong Nguyen M.V., Trocme C., Grange L., Lardy B.** (2015). La NADPH oxydase Nox4, une cible thérapeutique potentielle dans l'arthrose. *Bull. Acad. Natl. Méd.* 199, 673-687 p.
- **Motamed S.M., Naghibi F.** (2010). Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chemistry*, 119, 1637-1642.
- **Molyneux P.** (2004). The use of the stable free radical DiPhenylPicrylHydrazyl (DPPH), for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26(2). 211 P.
- **Muhammad Q.S., Adeela S., Shahinila S.** (2013). Phytochemical screening of *Tamarix dioica*. *Ex rech. Pharmacy research*, 7, 181-183 p.
- **Munier P.** (1973). Le palmier dattier. Paris, Maisonneuve et Larose, 221 p.

Références Bibliographique

N

- **Nicolas M., Daniel C.**(1998).Activités technologique en microbiologie-Technique de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'aquitaine- Bordeaux, PP
- **Nebeling L.** (2002). Phytochemicals, the color of a Healthy Diet. *Health Promotion Research Branch National Cancer Institute, Maryland.*

O

- **Ouerdane S., Ramdani F.**(2007). Etude du pouvoir antioxydant de deux agrumes : le citron et le pamplemousse. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. Option contrôle de qualité et analyse. Université Abederrahmane Mira-Bejaia-Algérie. 34 p.

P

- **Paris M., Hurabielle.**(1981). Abrégé de matière médicale.Pharmacognosie Tome 1^{er} Ed Masson. Paris. 102.103.104.107 p.
- **Peyron G.**(2000).*Cultiver le palmier-dattier.* Editions Quae, 109p.
- **Peronny S.**(2005).La perception gustative et la consommation des tanninschez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle.DisciplineEco-Ethologie .151 p.
- **Perron N.R. and Brumaghim J.L.** (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol com-pounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics.* 53(2), 75-100 p.
- **Pisoschi A.M., Pop A.** (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of MedicinalChemistry.* 97, 55-74 p.
- **Pibiri M.C.** (2006). Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles, Thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Lausanne, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL).
- **Prieto P., Pineda M., Aguilar M.M.** (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, *Anal Biochem,* 269, 337-341 p.
- **Paris M., Hurabielle.**(1981). Abrégé de matière médicale.Pharmacognosie Tome 1^{er} Ed Masson. Paris. 102.103.104.107 p.

Références Bibliographique

R

- **Rejeb I.** (2008). Etude de l'effet de l'irradiation sur les polyphénols du curumin. Projet de fin d'études en biologie industrielle. Université du 7 novembre à Carthage. Tunisie 3 p.
- **Roede R., Jones D.P.** (2010). Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 51, 380-390 p.
- **Ryan M.T., Muller H. and Pfanner N.** (1999). Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *Journal of Biological Chemistry*. 274(29), 20619-20627.

S

- **Saffidine K.** (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamuscaeruleus L.* et de *Plantago major L.* Mémoire de Doctorat. Option microbiologie. Université Ferhat Abbes-Sétif-Algérie. 92 p.
- **Sahli S., Zaidi S.A.** (2017). Évaluations du potentiel antioxydant et étude de la cytotoxicité des alcaloïdes totaux et des extraits phénoliques bruts de *Fumariaagraria*. Mémoire de master pharmacologie moléculaire. Université A.Mira – Bejaia. 1 p.
- **Sandhar H.K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M., Sharma P.** (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 25-41 p.
- **Sannomiya M., Fonseca V.B., Da silva M.A., Rocha L.R.M., Dos Santos L.C., Hiruma-Lima C.A., Britoc A.R.M.S., Vilegas W.** (2005). Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonimacrassaleaves* extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 1- 6 p.
- **Sedra M.** (2003). Le Palmier Dattier base de la mise en valeur des oasis au Maroc Techniques phoénicoles et Création d'oasis. Marrakech, Maroc. 25.29 p.
- **Siddhuraju P., Becker K.** (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vignaunguiculata (L.) Walp*) seed extracts. *Food Chem*, 101: 10-19 p.
- **Singleton V.L., Orthofer., Lamuela-Raventos R.M.** (1999). Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*. Vol. (299). 152 p.

Références Bibliographique

- **Singleton L.V., Rossi J.R.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic –phosphothungstic acid" *Am. J. Enol. Vitic.* Vol. (16), 144 p.
- **Shipp J., Abdel-Aal., El-Sayed M.** (2010). Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal.* 4, 7-22 p.
- **Shon H.Y., Son K.H., Kwon C.S., Kang S.S.** (2004). Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants: *Morus alba*, *Echinops*, *Pharokorea*, *esis Nakai*. *Phytomedicine* 11: 666 – 672.
- **Simmons L.T.** (1926). Rooting habits of the date palm. *Ann. Rep. Date Growers' Inst.* 3, 1-3 p.
- **Smyth T., Ramachandran V. N., Smyth W. F.** (2009). A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents* 33: 421 – 426 p.
- **Sousa R., Dias S. and Antunes C.** (2006). Spatial subtidal macrobenthic distribution in relation to abiotic conditions in the Lima estuary, NW of Portugal. *Hydrobiologia.* 559, 135-148 p.

T

- **Tahri K.** (2017). Etude de l'architecture et de la biomasse du système racinaire de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) adulte. Mémoire de magister en science Agronomique. Université Mohamed Khider. Biskra 11 p.
- **Tirichine H.S.** (2010). Etude ethnobotanique, activité antioxydants et analyse photochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) du Sud-est Algérien. Mémoire Magister en biologie. Université d'Oran, Algérie. 106 p.
- **Toutain G.** (1967). Le palmier dattier culture et production. Al awamia.
- **Toro J., Rodrigo R.** (2009). Oxidative stress: basic overview. In Rodrigo R. Oxidative stress and anti-oxidants: their role in human disease. First edition, *Nova Biomedical Books*: New York. 124 p.
- **Tounsi A.** (2020). Evaluation de l'activité antioxydante et de l'effet antioxydant et de l'effet anticorrosif des extraits (*Plantago cilia* et *Thymus lamiifolius*). Thèse de doctorat en chimie organique. Université Kasdi Mesbah Ouargla 17 p.

Références Bibliographique

- **Tripoli E., Guardia M.L., Giammanco S., Di Majo D., Giammanco M.** (2007). Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: *Food chemistry* 104: 466 – 479 p.

U

- **Uhl W., Dransfield J.** (1987). *Genera Palmarum. Allen Press. Lawrence. Kansas*, 610 p.

V

- **Vermerris W., Nicholson R.** (2006). Isolation and identification of phenolic compounds, phenolic compound biochemistry, Published by Springer, Dordrecht, 151-191 p.
- **Vermerris W.** (2006). Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).
- **Vorbach C., Harrison R., Capecchi M.R.** (2003). Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends in Immunology*, 24, 512-517 p.

W

- **Wang H., Dong-Gao X., Zhou G.C., Cai L., Yao W.B.** (2008). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit, *Food Chem*, 106, 888-895 p.
- **Wollgast J., Anklam E.** (2000). Review on polyphenols in *Theobromacacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423 – 447.

Y

- **Yazid H.** (2012). Volarisation des pédicelles de dattes dans le traitement des eaux. Thèse de doctorat en Génie de l'environnement. Université Houari Boumediene. Orane-Algérie. 18.21.22 p.

Références Bibliographique

Z

- **Zadak Z., Hyspler R., Ticha A., Hronek M., Fikrova P., Rathouska J., Hrciarikova D., Stetina R .(2009).** Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiological Research*, 58, 13-17 p.
- **Zeghad N.** (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister en biotechnologie végétale. Université Mentouri-Constantine. 26.28. 84 p.

Annexes

Annexes

Annexe 01 :

➤ La préparation du Mc Farland Standard :

La Mc Farland standard à 0,5 MFU est une solution utilisée lors de la préparation de l'inoculum bactérien.

Il se prépare en mélangeant 99.5ml d'Acide Sulfurique (0.18M) et 0.5ml de Chlorure de baryum (0.048 M) dans des tubes identiques aux tubes utilisés pour la préparation de l'inoculum. Il faut le stocker dans l'obscurité à une température entre 22°C à 25°C.

Après la préparation de la solution, on doit vérifier l'exactitude de la densité de **Mc Farland** par le spectrophotomètre à longueur d'onde de 625nm. Elle devrait être comprise entre 0.08 et 0.13. Avant chaque utilisation, agiter le tube pour mélanger le fin précipité blanc de Sulfate de Baryum.

➤ La préparation de l'eau physiologie :

Chlorure de sodium NaCl -----> 9 g

L'eau distillée -----> 1000 ml

- stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 min.

➤ La Préparation du milieu de culture Muller Hinton:

Gélose de Muller Hinton est une gélose standardisée pour les tests de sensibilité aux antibiotiques et sulfamides.

Pour la préparation de la gélose de Muller Hinton, on a besoin :

- 21g de la poudre du Muller Hinton.
- 25g de l'agar agar.

Les étapes de préparation sont :

1. Dans un bécher, en dissolvant la poudre dans un litre de l'eau distillé, il faut l'homogénéiser et chauffer en agitant.

2. Porter à ébullition environ une minute

3. Mettre dans des flacons de verre bien fermé pour stériliser à l'autoclave pendant 15 min à 121.1°C.

Pour l'utiliser, laisser refroidir, puis couler en boîte de pétri (25ml par boîte) dans un milieu stérile et laisser reposer. Ils sont prêts à l'utilisation immédiatement ou stocker à 2°C à 8°C pendant une semaine au plus.

Annexes

Annexe:02

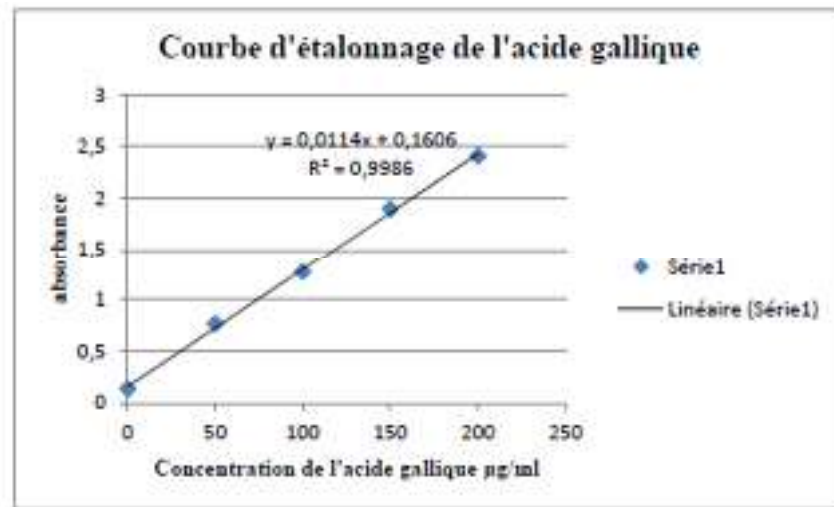


Figure 16 : Courbe étalonnage de l'acide gallique (Khelfallah A, 2012)

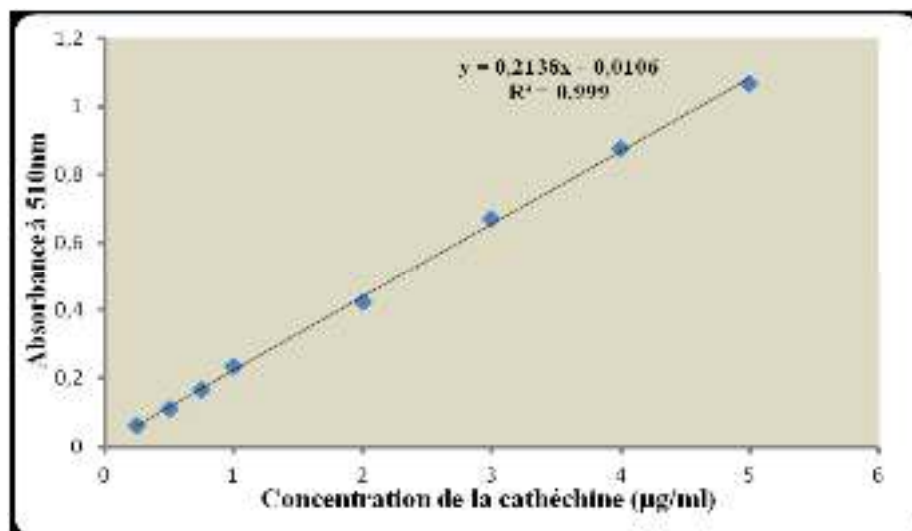


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Kholkhal F, 2013)

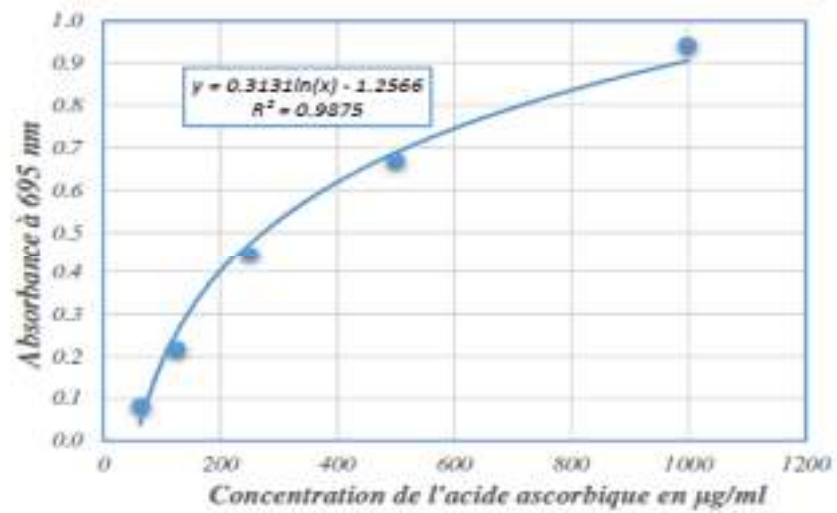


Figure18 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Saidi I, 2018)

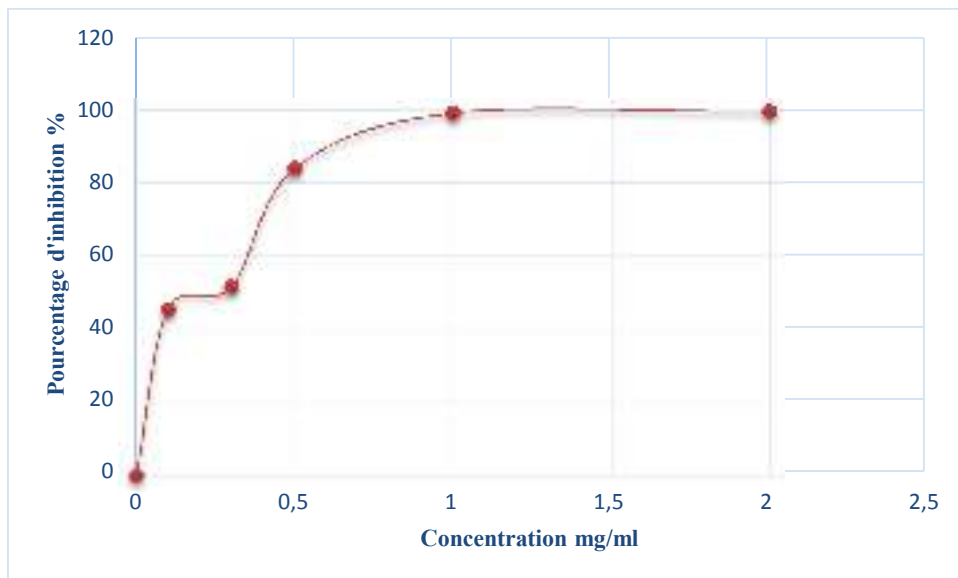


Figure 19 : Pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique par la méthode du piégeage du radical hydroxyle (El Haci, 2014)