



MG: Bija / 30 (14)

N° d'ordre.....

N° de série.....

**UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA**

**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET**

**DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

**DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

*Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme*

*de MAGISTÈRE en Biologie*

*Option : Biochimie et Analyses des Bio-produits*

**Par *Alia TELLI***

*Thème*



**CONTRIBUTION A L'OPTIMISATION DE L'EXTRACTION DES  
POLYPHENOLS DES DATTES (VARIETE GHARS) AU COURS DE  
DIFFERENTS STADES PHENOLOGIQUES ET ETUDE DE LEUR  
ACTIVITE BIOLOGIQUE**

Soutenu publiquement le : 30 /11/2009

**Jury :**

<b>Président</b>	Mme. BISSATI S.	MCa	Univ. Ouargla
<b>Encadreur</b>	Mme. MATI M. F.	MCa	Univ. Tizi-Ouzou
<b>Co-encadreur</b>	Mme. SIBOUKEUR O.E.K	MCa	Univ. Ouargla
<b>Examineur</b>	Mr. OULD EL HADJ M. D.	Pr	Univ. Ouargla
<b>Examineur</b>	Mme. OULD ELHADJ K. A.	MCa	Univ. Ouargla

l'origine de notre inspiration dans cette initiation de la recherche sur les polyphénols de dattes variété *Ghars*. Les objectifs assignés à notre travail sont de :

- Suivre l'évolution de la teneur en polyphénols à différents stades de maturité des dattes variété *Ghars*. Cinq stades de développement ont été définis par ordre chronologique de maturité (Hababouk, Kimri 1, Kimri 2, Khalal, Routab et Tmar) et donner un aperçu sur la concentration en polyphénols des fleurs de palmier dattier mâle et femelle ;
- évaluer les meilleures conditions ou paramètres pour l'extraction des PP de dattes aussi bien dans le choix du solvant que des conditions d'extraction comme le temps de macération, du rapport de la matière à extraire et du solvant, de la température d'extraction... arriver à optimiser les paramètres d'extraction ;
- identifier les différentes fractions des polyphénols par chromatographie sur couche mince ;
- étudier l'activité anti-oxydante des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins en utilisant une méthode appropriée ;
- justifier ou comprendre le comportement des autochtones dans le choix du stade de maturité des dattes *Ghars* pour leur alimentation ; en rapport à la teneur en polyphénols et à leur activité anti-oxydante.

### Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Position systématique du palmier dattier (ZAID, 2002).	6
II	Superficies et nombre total de palmiers dattiers à travers le monde (FERRY, 1996; ZAID, 2002).	8
III	Localisation des palmeraies selon MESSAR (1996).	9
IV	Superficies et nombre total de palmiers dattiers dans la région de Ouargla (D.S.A., 2007).	10
V	Les appellations des stades de maturation (DOWSON et ATEN, 1963 ; MUNIER, 1973).	11
VI	Teneur en saccharose et sucres réducteurs de dattes de différentes consistances (DOWSON et ATEN, 1963).	15
VII	Teneurs en vitamines et sels minéraux de certaines variétés de dattes (a : SAWAYA <i>et al.</i> , 1983b ; b : KHATAB <i>et al.</i> , 1983 ; c : AHMED <i>et al.</i> , 1995).	17
VIII	Composition de noyau de dattes (g/100g).	18
IX	Période de prélèvement des échantillons en fonction du stade de maturité des dattes de la variété <i>Ghars</i> durant la saison 2007/2008.	43
X	Evolution de la teneur en MS (%) au cours de la maturation des dattes (moyenne de six essais).	53
XI	Analyse de variance de la teneur en matière sèche.	55
XII	Teneur donnée en mg de Ppt et de Ft en fonction du rapport solvant/can et en fonction des solvants utilisés (méthanol ou éthanol) de dattes (variété <i>Ghars</i> ) au stade Kimri I.	57
XII	Teneur en Ppt et en Ft en fonction de rapport solide /liquide pour les deux alcools (méthanol et éthanol) de dattes (variété <i>Ghars</i> ) au stade Kimri I.	60
XIV	Teneur en Ppt et en Ft en fonction de la température pour les deux alcools (méthanol et éthanol) de dattes (variété <i>Ghars</i> ) au stade Kimri I.	62
XV	Teneur en Ppt et en Ft en fonction du temps pour les deux alcools (méthanol et éthanol) de dattes (variété <i>Ghars</i> ) au stade Kimri I.	65
XVI	Extraits préparés au cours de différents stades de maturité (à partir d'une prise d'essai de 10g).	68
XVII	Teneur en flavonoïdes de chaque fraction durant chaque stade de maturité.	69

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Coupe dans la datte et le noyau selon MUNIER (1973).	11
2	Des dattes aux différents stades de maturité (BARREVELD, 2004)	13
3	Quelques exemples d'acides-phénols (KREIF, 2003).	23
4	Quelques exemples de coumarines (KREIF, 2003).	24
5	Un exemple de lignane (KREIF, 2003).	24
6	Quelques motifs quinoniques (KREIF, 2003).	25
7	Exemple d'orcinole (KREIF, 2003).	26
8	Exemples de dérivés d'extension du phénylpropane (HOFFMANN, 2003 ; KREIF, 2003).	27
9	Structure de base des flavonoïdes ( <b>noyau phényl-2-chromane</b> ) (PERRET, 2001).	27
10	Structure chimique de resvératrol (PERRET, 2001).	28
11	Réactions de freinage de propagation radicalaire par les polyphénols (BERSET, 2006, cité par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).	37
12	La zone d'étude.	41
13	Différents stades de maturité de dattes et des fleurs mâles et femelles de la variété <i>Ghars</i> .	42
14	Cartographie du positionnement des palmiers dattiers choisis (portant les numéros de 1 à 10 de la variété <i>Ghars</i> ) dans la palmeraie.	43
15	Différentes étapes d'extraction des polyphénols de dattes.	46
16	Structure d'ABTS et de son radical cation ABTS <sup>+</sup> (YU, 2006).	49
17	Brunissement des fruits de dattes après la décongélation (Hababouk ou Loulou à gauche) et au cours de la congélation (Kimri II ou Kh'lal II à droite).	52
18	Les fruits à l'état frais (Hababouk ou Loulou à gauche et Kimri ou Kh'lal à droite).	52
19	Evolution de la teneur en matière sèche au cours de la maturation de dattes de la variété <i>Ghars</i> .	54
20	Influence de type d'alcool et de différents rapports alcool/eau sur la teneur en PPt de dattes (variété <i>Ghars</i> ) au stade Kimri I.	58

### Liste des annexes

N°	Titre	Page
1	Composition de dattes de différentes variétés.	102
2	Composition d'acide gras d'huiles de noyaux de dattes (g/100g de la totale des acides gras)	103
3	Dattes de différents stades lyophilisées.	103
4	Analyse de la variance des paramètres étudiés pour l'optimisation de l'extraction (teneur en polyphénols).	104
5	Analyse de la variance des paramètres étudiés pour l'optimisation de l'extraction (teneur en flavonoïdes).	105
6	Analyse de la variance de l'extraction liquide-liquide.	105
7	Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	106
8	Courbe d'étalonnage de la rutine	106
9	Courbe d'étalonnage de Trolox	106
10	Analyse de la variance de l'activité anti-oxydante.	107
11	Chromatogramme des extraits obtenus par CCM.	108

## EXTRACTION, IDENTIFICATION AND BIOLOGIC ACTIVITY OF DATE FRUITS POLYPHENOLS AT DIFFERENT STAGES OF RIPENING (GHARS VARIETY).

### *Summary*

The samples of dates (*Ghars* variety) collected at different stages of ripening were lyophilized and examined for their dry matter, total polyphenols, total flavonoids and tannins contents. The anti-oxidant activity of phenolic compounds was studied. Dry matter of dates increased proportionality with the ripening of dates fruits, Tmar stage having the highest levels from  $92.92 \pm 0,07$  to  $94.27 \pm 0,04\%$ . The optimal conditions for extraction of dates fruit polyphenols were determined using the conventional liquid-solid method. During 5 hours, at  $23^{\circ}\text{C}$  with a sample to solvent ratio of 1/6, were considered optimum. Methanol (80%) was the most effective solvent for extraction of polyphenols. The results exhibited the evolution of phenolics compounds content during the dates maturation. Average total polyphenols ranged from 1448.59 mg/10g at Hababouk or Loulou stage to 4.19 mg gallic acid equivalent (EAG)/10g at Tmar stage. However, the total flavonoids content were 714.00 mg/10g at the first stage and 1.53 mg rutin equivalent (RE) /10g at the last stage. Concerning the anti-oxidant activity, we observed that it followed the same way like polyphenols and flavonoids contents. The hydrolysable tannins increased during the maturation until their disappearing at the last stage. The characterization of our different extracts with thin layer chromatography (TLC) showed that the evolution of polyphenols was quantitative as well as qualitative. The results obtained concerning polyphenols content and anti-oxidant activity were allowed us to justify the food mode of native which consist to consume unripe dates (Routab or Martouba). Upon presentation of the results with regard to content of phenolic compounds and their anti-oxidant activity; date fruits may be considered as an important source of anti-oxidants and constitute occasionally a health protection.

**Keywords:** dates, *Ghars* variety, different stages of ripening, optimization of extraction, polyphenols, flavonoids, anti-oxidant activity.

## Table de matières

Introduction générale.....	01
<b>Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Présentation de palmier dattier.....</b>	<b>06</b>
1.1. Présentation botanique et origine de palmier dattier.....	06
1.1.1. Présentation botanique .....	06
1.1.2. Origine .....	06
1.2. Superficie et répartition géographique.....	07
1.2.1. Dans le monde.....	07
1.2.2. Dans l'Algérie.....	09
1.2.3. Dans la région de Ouargla.....	10
1.3. Les dattes.....	10
1.3.1. Formation et évolution de dattes .....	10
1.3.2. Composition de dattes.....	13
1.3.2.1. Principaux constituants de la pulpe.....	14
1.3.2.2. Composition du noyau .....	17
<b>Chapitre II : Les différentes familles des polyphénols et leurs propriétés physico-chimiques.....</b>	<b>20</b>
2.1. Définition.....	20
2.2. Propriétés physico-chimiques.....	20
2.2.1. Propriétés propres du groupement OH.....	20
2.2.2. Propriétés propres du cycle benzénique.....	22
2.3. Différentes familles des polyphénols.....	22
2.3.1. Shikimates.....	22
2.3.2. Polyacétates ou polykétides.....	25
2.3.3. D'origine mixte.....	26
<b>Chapitre III : Les polyphénols de dattes.....</b>	<b>30</b>
3.1. Les polyphénols de dattes.....	30
3.1.1. Les acides phénols.....	30
3.1.2. Les flavonoïdes.....	30
3.1.3. Les tanins.....	30
3.2. L'évolution de la teneur en polyphénols.....	31

<b>Chapitre IV : Activités biologiques des polyphénols.....</b>	<b>33</b>
4.1. En générale.....	33
4.1.1. Activité anti-microbienne.....	33
4.1.2. Activité anti-inflammatoire.....	34
4.1.3. Activité anti-tumorale.....	35
4.1.4. D'autres activités biologiques.....	35
4.2. Activités biologiques de dattes.....	36
4.2.1. Activité anti-oxydante.....	36
4.2.2. Activité anti-mutagénique.....	38

## **Partie expérimentale**

I. Présentation de la zone d'étude.....	41
<b>II. Matériel et méthodes .....</b>	<b>41</b>
2.1. Matériel végétale.....	42
2.1.1. Variété de dattes.....	42
2.1.2. Stades de développement .....	42
2.1.3. Récoltes des fruits.....	42
2.2. Méthodes.....	44
2.2.1. Lyophilisation.....	44
2.2.2. Détermination de la teneur en matière sèche.....	44
2.3. Matériel et méthodes d'extraction.....	44
2.3.1. Macération .....	44
2.3.2. Optimisation de l'extraction des polyphénols.....	44
2.3.3. Extraction des polyphénols.....	45
2.3.4. Extraction liquide-liquide.....	45
2.4. Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins hydrolysables.....	47
2.4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	47
2.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	47
2.4.3. Dosage des tanins.....	47
2.5. Méthodes de séparation.....	48
2.5.1. Chromatographie sur couche mince.....	48
2.6. Activité biologique.....	49

## Introduction générale

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est le plus important arbre fruitier dans le monde arabe (AHMED *et al.*, 1995). Il joue à la fois un rôle économique grâce à la production de dattes, et un rôle écologique puisqu'il confère sa structure à l'oasis (ZAHER et BAAZIZ, 2006).

La production mondiale de dattes dépasse 6 millions de tonnes par an (F.A.O., 2004). L'Algérie est le premier pays producteur dans l'Union du Maghreb Arabe, avec une production de 450.000 tonnes en 2004, dont la quantité destinée à l'exportation est très faible en comparaison avec celle consacrée à la consommation locale (BOUDRIES *et al.*, 2007). En plus, l'Algérie est caractérisée par sa richesse en patrimoine génétique, plus de 900 cultivars de palmier dattier sont recensés (HANNACHI *et al.*, 1998), mais la plupart de ces cultivars sont menacés d'érosion ou de disparition à cause de leur faible intérêt économique (ALLAM *et al.*, 2004).

Le fruit du palmier dattier constitue le principal régime alimentaire de la population saharienne, et continue à jouer cet important rôle bien que l'alimentation se soit diversifiée (MANSOURI *et al.*, 2005 ; BENCHELAH et MAKKA, 2008). Les dattes sont riches en certains nutriments essentiels ; elles fournissent l'énergie grâce à leur teneur élevée en glucides. La majorité de ces glucides sont des sucres simples (glucose et fructose) ce qui, par conséquent, rend leur absorption par le corps humain plus facile (AL-FARSI *et al.*, 2007). En plus de leur utilisation dans l'alimentation, les dattes sont utilisées traditionnellement dans le domaine médical (BENCHELAH et MAKKA, 2008).

Plusieurs auteurs ont étudiés les différents constituants chimiques et nutritionnels de dattes (SAWAYA *et al.*, 1983a ; SAWAYA *et al.*, 1983b ; KHATAB *et al.*, 1983 ; SOLIMAN, 2006 ; ELLEUCHE *et al.*, 2008). La majorité de la littérature scientifique est limitée à la description des composés majeurs et à la composition minérale. Très peu d'études se sont intéressées à l'évolution de différents constituants au cours de la maturation (SAWAYA *et al.*, 1983b ; AHMED *et al.*, 1995), ainsi l'évolution de la teneur en polyphénols pendant le mûrissement n'a été mentionnée que dans une seule publication (AL-OGAIDI et MUTLAK, 1986). Ce n'est que récemment que les chercheurs s'intéressent aux métabolites secondaires qui ont des propriétés biologiques, tels que les polyphénols. Ces métabolites présentent des propriétés liées à la santé humaine dans la protection particulièrement des maladies cardiovasculaires (BOUDRIES *et al.*, 2007).

**Tableau VI :** Teneur en saccharose et sucres réducteurs de dattes de différentes consistances (DOWSON et ATEN, 1963).

Variété	Pays d'origine	Pourcentage du poids à l'état sec		
		Sucres totaux	Sucres réducteurs	saccharose
<b>Molles :</b>				
Barhi	Irak	85	85	0
Ghars	Algérie	77	77	0
Mahjoul	Maroc	77	77	0
<b>Demi-molles :</b>				
Deglet Nour	Algérie	77	39	38
Dayri	Irak	75	70	5
Zahdi	Irak	78	71	7
<b>Sèches :</b>				
Degla Baida	Algérie	76	17	59
Kinta	Tunisie	80	35	45
Thouri	Algérie	73	41	32

#### - Lipides

Ces constituants existent en petite quantité dans la pulpe de dattes. Les graisses sont concentrées principalement dans la peau (2,5-7,5%) et elles ont plutôt une importance physiologique (protection du fruit) qu'une contribution à la valeur nutritionnelle de dattes. La pulpe de dattes renferme environ 0,1-0,4% (BARREVELD, 2004).

Les principaux acides gras identifiés dans les dattes sont : les acide palmitique, caprique, caprylique, linoléique, laurique, pelargonique, myristique et d'autres.

#### - Les protéines et enzymes

Les protéines sont parmi les constituants intéressants, mais la datte n'en renferme qu'une petite quantité. Le taux diffère selon les variétés et surtout les stades de maturité. Leur teneur est en général de l'ordre de 1,75% du poids frais de la pulpe. Leurs acides aminés sont favorables pour les besoins humains, mais leur quantité est assez faible pour les considérer comme une source nutritionnelle importante. Les protéines jouent un rôle dans les réactions de brunissement pendant la maturation (DOWSON et ATEN, 1963 ; BARREVELD, 2004).

Parmi les protéines il est intéressant de relever la présence de certains enzymes qui jouent un rôle important dans le processus de conversion qui a lieu pendant la formation et la maturation des dattes. L'activité de quatre parmi eux présente un intérêt particulier sur la qualité de produit final :

\* L'invertase qui est le responsable de l'inversion de saccharose.

\* La polygalacturonase et la pectinesterase ces deux décomposent les pectines insolubles en produits solubles, en contribuant à la mollesse des fruits.

D'un point de vue botanique le palmier dattier n'est pas connu à l'état spontané (sauvage) (BATTESTI, 2004).

En Irak, il a été cultivé dès 4000 A.C. (BATTESTI, 2004). Cela est confirmé par l'histoire, et par les recherches archéologiques dans les anciens recoins historiques des Sumériens, Akkadiens et Babyloniens. Les maisons et les temples de ces populations étaient couverts avec les troncs et des feuilles du palmier dattier (ZAID, 2002).

En Egypte, le palmier est considéré comme le symbole de l'année hiéroglyphique et ses feuilles comme symbole des mois. Néanmoins, la culture du palmier dattier ne devint importante en Egypte qu'au bout 3000-2000 A.C. un peu après l'Iraq (ZAID, 2002).

La diffusion du palmier dattier dans la région du Maghreb aurait été progressive à partir de la vallée du Nil ou de la mésopotamie. En Algérie, dans l'oued Djerat, la culture est attestée par des peintures rupestres de la période Caballine, soit 3200 ans BP (OUENNOGHI et DUBOST, 2005).

Le nom « datte » dérivant du mot Hébreu « dacheb », marque que le proche orient est la plus ancienne origine du palmier dattier (AUDEJANS, 1969). Il serait vraisemblablement dans ces régions la première espèce végétale domestiquée par l'homme et il est l'un des arbres fruitiers cultivés au monde, qui offre un délicieux fruit malgré le climat inhospitalier du désert (BENCHELAH et MAKKA, 2008).

## **1.2.- Superficie et répartition géographique**

### **1.2.1.- Dans le monde**

Le nombre total de palmiers dattiers dans le monde est d'environ de 100 millions, distribués en 30 pays, et produisant entre 2.5 et 4 millions de tonnes de fruits par an (ZAID et WET, 2002). Cependant, les statistiques sur le nombre de palmiers dattiers sont assez imprécises et peu homogènes, d'une part parce que des recensements précis sont difficiles à réaliser, d'autre part parce qu'il n'est pas toujours indiqué à quelle catégorie de palmier dattier se réfèrent les données : nombre total de palmier dattier, de palmiers productifs, de palmiers francs, de pieds males, de palmiers monostipe ? (FERRY, 1996).

L'Asie occupe la première place en matière de distribution de cette espèce avec 60 millions palmiers dattiers (Arabie saoudite, Iran, Irak, Oman, Kuwait, Yémen.....), alors que l'Afrique occupe la deuxième position avec 32 millions de pieds (Algérie, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Soudan...). Le Mexique et les USA ont 600.000 palmiers dattiers, suivi par l'Europe (principalement Sapin) avec 32.000 et l'Australie avec 30.000 palmiers dattiers.

Les pays méditerranéens du sud ont 35 millions de palmiers dattiers (35% du total mondial). En se basant sur une densité de plantation de 200 palmiers dattiers à l'hectare, le

## 1.2.2.- En Algérie

Les oasis occupent une superficie totale de 85.000 ha et recèlent environ 9 millions de palmiers. Plusieurs facteurs négatifs (l'insuffisance du drainage, la remontée des sels, l'ensablement, la pollution des nappes superficielles, un déficit chronique en eau d'irrigation, la contrainte du Bayoud....) sont à l'origine de l'état de dégradation avancé des oasis et des niveaux de rendement peu performants des exploitations agricoles (FERRY, 1996).

En ce qui concerne l'âge des palmeraies, près de 30% des palmiers ont dépassé l'âge limite de production, d'environ 60 ans (IBRAHIM et KHALIF, 1998), et affichent des rendements égaux ou inférieurs à 15 kg par arbre. Environ 50% des palmiers seulement constituent la capacité actuelle de production en ayant des rendements de 35-45 kg /arbre.

La structure par âge des palmeraies montre que la reconstitution a été insignifiante (1% par an). Ceci est la conséquence des faibles moyens alloués à la sauvegarde et au rajeunissement des plantations (MESSAR, 1996).

La palmeraie est essentiellement concentrée dans le Sud-Est, son importance décroît en allant vers l'Ouest et le Sud (tableau III). C'est dans les wilayates d'El-Oued, Biskra et Ouargla où les conditions du milieu sont les plus favorables, que la conduite du palmier est la mieux maîtrisée (MESSAR, 1996).

Tableau III : Localisation des palmeraies selon MESSAR (1996).

wilaya	Palmiers en 1985 (milliers d'individus)	Palmiers en 1994 (milliers d'individus)	% du verger algérien
El-Oued	1.876	2.270	25
Biskra	1.808	2.095	23
Ouargla	1.258	1.680	19
Adrar	1.276	1.342	15
Ghardaïa	499	548	6
Béchar	496	534	6
Tamanrasset	192	299	3
Illizi	15	50	-
Tindouf	5	5	-
Autres wilayate	193	183	2
Total national	7.1519	9.007	100

Par conséquent, 75% de la production sont concentrés dans le Sud-Est et 15% dans le Sud-Ouest (MESSAR, 1996).

### 1.2.3.- Dans la région d'Ouargla

Les palmeraies occupent une superficie de 20.622 ha avec 2.340.134 palmiers, et une densité de plantation égale à environ 114 palmiers /ha. Le nombre de palmiers dattiers dans chaque département de la wilaya est illustré dans le tableau IV. Les variétés les plus cultivées dans la wilaya sont : Deglet Nour qui représente environ 54,33 % du nombre total des palmiers existants, Ghars 39,06 % et Dagla Baida 6.63 %. Alors que l'ensemble d'autres variétés ne représente que 0,25 % (D.S.A., 2007).

**Tableau IV :** Superficies et nombre total de palmiers dattiers dans la région de Ouargla (D.S.A., 2007).

Département	Superficie (ha)	Nombre de palmiers dattiers existants	Nombre de palmiers dattiers en rapport	Production de dattes (Qx)
Ouargla	2.942	406.234	395.026	171.470
Sidi-khouiled	4.338	438.754	261.377	121.480
N'goussa	1.619	162.467	121.458	35.093
H. Messaoud	172	20.270	12.400	3.329
El-borma	0	0	0	0
Touggourt	3.110	406.725	332.121	162.757
Megarine	3.270	316.414	233.477	174.605
Temacine	3.132	359.088	275.440	91.369
Al-hadjira	1.067	138.667	98.345	38.960
Taibet	972	92.415	78.370	49.019
Total de la wilaya	20.622	2.340.134	1.835.014	849.082

### 1.3.- Les dattes

#### 1.3.1.- Formation et évolution des dattes

La datte est une baie ayant une seule graine (noyau) entourée par une membrane, suivie par l'endocarpe, le mésocarpe (pulpe), puis une enveloppe fine cellulosique l'épicarpe ou la peau. Le fruit est attaché au pédicelle par le périanthe (fig. 1).

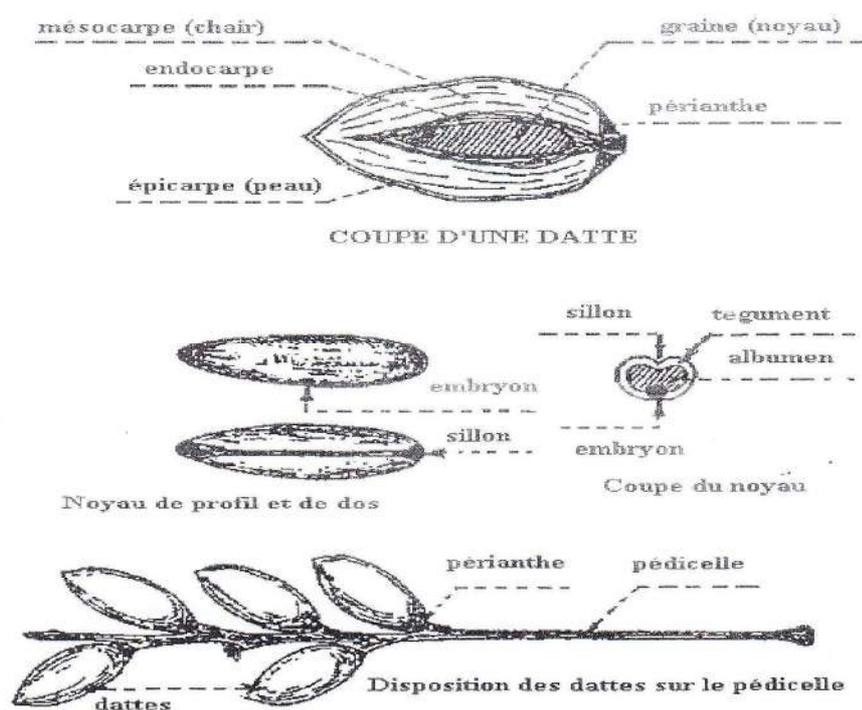


Figure 1 : Coupe dans la datte et le noyau selon MUNIER (1973).

Les dattes ont des formes, dimensions, poids et couleurs très variables. Elles prennent environ 200 jours dès la pollinisation jusqu'à la maturation totale (Tmar). Durant sa formation et sa maturation, le fruit passe par un nombre de phases distinctes (Fig. 2). Chaque phase est distinguée par une ou plusieurs caractéristiques particulières ; physiologique et chimique (DOWSON et ATEN, 1963).

Les appellations des stades diffèrent d'une région à une autre. DOWSON et ATEN (1963) ont adopté les termes utilisés en Irak. Ces noms deviennent les plus utilisés par les auteurs. Les appellations utilisées dans les palmeraies du Sahara algérien sont citées par MUNIER, 1973 (tableau V).

Tableau V : Les appellations des stades de maturation (DOWSON et ATEN, 1963 ; MUNIER, 1973).

Différents stades	Appellations selon les régions				
	I	II	III	IV	V
Sahara algérien (MUNIER, 1973)	Loulou	Kh'lal	Bser	Mretba ou Martouba	Tmar
En Irak (DOWSON et ATEN, 1963)	Hababouk	Kimri	Kalal ou Khalal	Routab	Tmar

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Coupe dans la datte et le noyau selon MUNIER (1973).	11
2	Des dattes aux différents stades de maturité (BARREVELD, 2004)	13
3	Quelques exemples d'acides-phénols (KREIF, 2003).	23
4	Quelques exemples de coumarines (KREIF, 2003).	24
5	Un exemple de lignane (KREIF, 2003).	24
6	Quelques motifs quinoniques (KREIF, 2003).	25
7	Exemple d'orcinole (KREIF, 2003).	26
8	Exemples de dérivés d'extension du phénylpropane (HOFFMANN, 2003 ; KREIF, 2003).	27
9	Structure de base des flavonoïdes ( <b>noyau phényl-2-chromane</b> ) (PERRET, 2001).	27
10	Structure chimique de resvératrol (PERRET, 2001).	28
11	Réactions de freinage de propagation radicalaire par les polyphénols (BERSET, 2006, cité par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).	37
12	La zone d'étude.	41
13	Différents stades de maturité de dattes et des fleurs mâles et femelles de la variété <i>Ghars</i> .	42
14	Cartographie du positionnement des palmiers dattiers choisis (portant les numéros de 1 à 10 de la variété <i>Ghars</i> ) dans la palmeraie.	43
15	Différentes étapes d'extraction des polyphénols de dattes.	46
16	Structure d'ABTS et de son radical cation ABTS <sup>+</sup> (YU, 2006).	49
17	Brunissement des fruits de dattes après la décongélation (Hababouk ou Loulou à gauche) et au cours de la congélation (Kimri II ou Kh'lal II à droite).	52
18	Les fruits à l'état frais (Hababouk ou Loulou à gauche et Kimri ou Kh'lal à droite).	52
19	Evolution de la teneur en matière sèche au cours de la maturation de dattes de la variété <i>Ghars</i> .	54
20	Influence de type d'alcool et de différents rapports alcool/eau sur la teneur en Ppt de dattes (variété <i>Ghars</i> ) au stade Kimri I.	58

insoluble, si bien que le fruit perd toute l'astringence qu'il pouvait avoir conservée du stade Kh'lal au stade Bser (DOWSON et ATEN, 1963 ; ZAID, 2002 ; BARREVELD, 2004).

### 1.3.1.5.- Cinquième stade (Tmar)

Le fruit a alors perdu beaucoup d'eau et le rapport entre le sucre et l'eau restante est

assez élevé pour empêcher la fermentation. Il s'agit d'un stade comparable à celui du raisin sec ou du pruneau. Dans les variétés dites « molles », la pulpe est d'abord molle, puis devient de plus en plus ferme tout en demeurant souple. Dans la plupart des variétés, la peau adhère à la pulpe et se ride à mesure que celle-ci diminue de volume. La couleur de l'épiderme et de la pulpe force progressivement (DOWSON et ATEN, 1963 ; ZAID, 2002 ; BARREVELD, 2004).

La dattre sèche ou dure, qui ne passe pas par le stade Martouba ou ne s'amollit pas au stade Tmar a à peu près la même teneur en eau que la dattre molle à ce dernier stade mais présente une texture beaucoup plus serrée (DOWSON et ATEN, 1963 ; ZAID, 2002 ; BARREVELD, 2004).

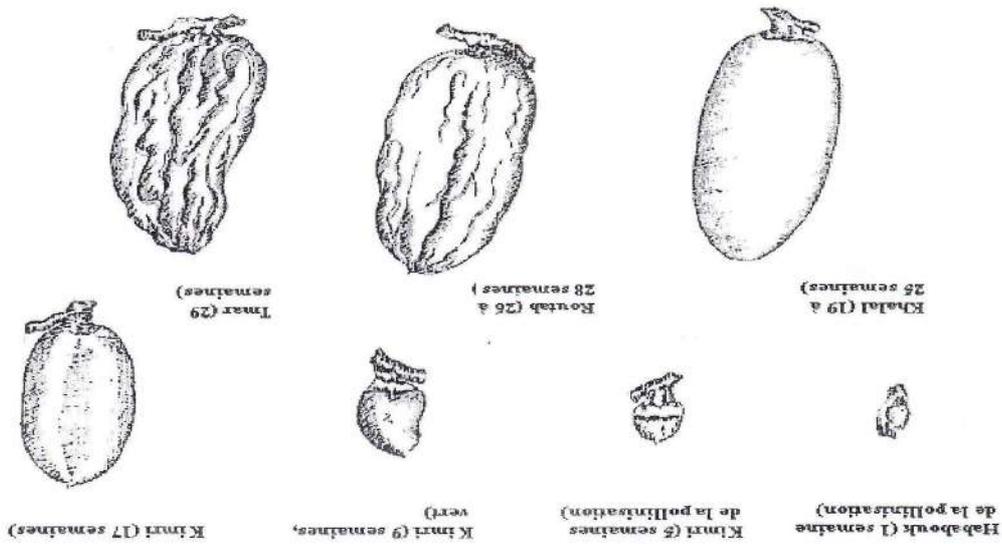


Figure 2 : Des dattes aux différents stades de maturité (BARREVELD, 2004)

### 1.3.2.- Composition de dattes

La connaissance de la composition chimique (quantitative et qualitative) des dattes a une grande importance pour leurs utilisateurs en particulier les conditionneurs qui sont intéressés beaucoup plus par le rapport sucre/eau dans les dattes.

La datte est constituée d'une partie charnue, la chair ou la pulpe, et d'un noyau (BARREVELD, 2004 ; MUNIER, 1973).

#### 1.3.2.1.- Principaux constituants de la pulpe

La pulpe de la datte mûre est composée de sucres, d'eau, de cellulose, d'éléments minéraux et de produits divers : protéines, lipides, pectines, tanins, vitamines...

Les sucres et l'eau sont les principaux constituants des dattes. Ces éléments confèrent à celle-ci, par leur proportion, sa consistance (molle, demi-molle, sèche).

La composition de dattes varie d'une variété à une autre et d'un stade de maturité à l'autre dans la même variété (MUNIER, 1973 ; BARREVELD, 2004).

##### - Humidité

L'humidité est parmi les facteurs importants qui précisent la consistance des dattes. La teneur en eau diminue au fur et à mesure que la datte devient mature. Elle passe par sa valeur extrême au début du stade Kh'lal (Kimri) 85%, puis à 50-60% au stade Bser (Kalal), environ 35-40% pour Mertouba (Routab) et autour de 24% au stade final (Tmar) (DOWSON et ATEN, 1963 ; BARREVELD, 2004).

##### - Sucres

Dans les anciens pays producteurs de dattes, les dattes ont été utilisées plus comme source de sucres que comme fruit. A Tibesti (Tchad), l'eau est bouillie avec les dattes afin de préparer le thé ; les nomades font bouillir le lait avec les dattes ou bien ils sont consommés en l'état afin de fournir les calories quotidiennes (datte à 20% d'humidité peut fournir environ 3000 Kcal/kg de chair, dont la grande partie provient des sucres).

La datte renferme un mélange de sucres, le saccharose et les sucres réducteurs (glucose et fructose). Les deux sucres réducteurs dérivent du saccharose après inversion. En effet, au cours de la maturation des dattes, la teneur en eau est diminuée, ce qui fait activer l'invertase, l'enzyme responsable de l'inversion du saccharose.

Les sucres représentent les trois quarts environ de la matière sèche de la pulpe des fruits mûrs. Les dattes molles contiennent peu de saccharose, alors que le sucre des dattes sèches se compose à peu près pour 2/3 de saccharose et pour 1/3 de sucres réducteurs (sucre inverti). Les dattes demi-molle occupent à cet égard une position intermédiaire.

Une exception marquante à cette règle est représentée par Deglet Nour, datte à saccharose par excellence, qu'on a rangé dans les « demi-molle ». Dans cette variété, l'inversion de saccharose est partielle (DOWSON et ATEN, 1963 ; BARREVELD, 2004).

Lorsque les dattes perdent leur couleur verte et deviennent jaunes ou rouges, les tanins se déposent dans les cellules géantes où ils sont présents jusqu'alors sous forme soluble et y constituent des granules insolubles ; l'astringence disparaît alors. La rapidité de processus diffère selon les variétés ; celles qui perdent le plus vite leur astringence sont les premières à être commercialisées à l'état Bser (Khalal) (DOWSON et ATEN, 1963).

### 3.2.- Evolution de la teneur en PP

L'évolution de la teneur en PP au cours de différents stades de maturité a été étudiée par AL-OGAIDI et MUTLAK en 1986. Quatre variétés de dattes cultivées en Irak (Zahdi, Sayer, Kistawi et Shukkar) sont utilisées pour rechercher leur composition chimique (les composés phénoliques solubles, les tanins solubles et les tanins insolubles) aux stades suivants : Kimri, Khalal, Routab et Tmar. La variété Zahdi présente la teneur la plus élevée en composés phénoliques solubles et les tanins solubles au stade Kimri. Le taux des composés phénoliques diminue au fur et à mesure que les dattes deviennent mures, alors que le taux des tanins insolubles augmente. Chez la variété Shukkar, les tanins solubles ont complètement disparus (AL-OGAIDI et MUTLAK, 1986).

SAWAYA et al. (1983a) ont étudié l'évolution de la teneur en tanins aux stades Khalal et Tmar chez 25 variétés cultivées en Arabie Saoudite. La concentration des tanins est de 1,7 à 6,7 g/100g de poids sec au stade Khalal et entre 0,6 et 2,7 g/100g de poids sec au stade Tmar (SAWAYA *et al.*, 1983a).

Tableau VII : Teneurs en vitamines et sels minéraux de certaines variétés de dattes (a : SAWAYA *et al.*, 1983b ; b : KHATAB *et al.*, 1983 ; c : AHMED *et al.*, 1995).

Pays	Variété	Vitamines			Sels minéraux (mg/100g du poids sec)				
		A (UI)	B <sub>1</sub> (mg)	B <sub>1</sub> (mg)	K	Fe	Ca	P	Mg
Arabie saoudite <sup>a</sup>	Ajwa	92	nd	nd	1223	1.42	14	55	51
	Hilwa	65	nd	nd	696	1.43	28	59	54
	Suwairi	0	nd	nd	655	1.12	31	52	43
Soudan <sup>b</sup>	Barkawi	nd	0.524	0.350	32.50	22.0	88.0	96.1	88.0
	Tamoda	nd	0.372	0.464	25.00	18.0	62.0	100.4	86.0
	Jawa	nd	0.324	0.667	125.0	33.0	106.0	65.0	57.0
AEU <sup>c</sup>	Nagal	nd	nd	nd	1037	1.2	47	nd	149
	Khunaizi	nd	nd	nd	704	1.5	15	nd	59
	Fard	nd	nd	nd	9.4	1.2	14	nd	63

nd : non déterminé.

#### - Autres substances chimiques

Des substances, bien qu'elles existent en petite quantité, ont une influence sur la qualité de dattes. Parmi elles, nous pouvons citer :

- Les polyphénols qui peuvent constituer plus de 3% du poids sec de la pulpe de dattes ;
- les acides organiques, plusieurs sont isolés à partir de la chair de dattes (acide malique, acide phosphorique, acide citrique, acide aspartique, acide galacturonique.....) et qui contribuent à la saveur des dattes. La teneur en acides est diminuée au cours de la maturation. Les valeurs de pH sont rangées entre 5.3 et 6.3 ;

- les composés volatiles qui sont responsables de l'arôme des dattes, ne sont pas beaucoup étudiés donc peu connus. Dans la variété Zahdi, 38 composés volatils sont identifiés constituant de deux hydrocarbures insaturés : 5 aldéhydes, 6 cétones, 5 alcools, 3 phénols et 11 acides gras libres ;

- pigments : des pigments de différentes natures sont identifiés dans certaines variétés de dattes : anthocyanine, flavonols, lycopène, carotènes, flavoxanthine, caroténoïdes et lutéines ;

- et stérols : dans la chair des dattes, il y a de phytostérol, compésterol, stigmastérols, b-sitosterol et iso-frucosterol qui font l'objet d'étude (BARREVELD, 2004).

#### 1.3.2.2.- Composition de noyau

Le noyau ou graine de forme allongée et de grosseur variable ; a un poids moyen qui oscille autour du gramme. Il représente de 7 à 30% du poids de la datte et est constitué d'un albumen corné, de consistance dure, protégé par une enveloppe cellulosique. Il est utilisable dans l'alimentation humaine, après tarification, il peut en effet constituer un succédané du

café et donne une décoction d'une saveur et d'un arôme agréable. Il est surtout utilisé comme provende pour les animaux à cause de sa valeur fourragère importante (MUNIER, 1973).

De plus, les noyaux sont riches en produits qui peuvent intervenir dans la prévention de certaines affections (les antibactériens, les anticarcinogéniques). Il s'agit des fibres alimentaires, des vitamines, des sels minéraux, des inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase, des tanins et de l'acide phytique. Ce dernier joue un rôle important dans le traitement de cancer, hypercholestérolémie, hypercalcurie et le calcul rénal (PLAAMI, 1997 ; HAMADA *et al.*, 2002).

Une étude sur la composition des noyaux de deux variétés de dattes (Deglet Nour et Allig) et surtout les caractéristiques de la fraction lipidique, a montré que la fraction lipidique contient plusieurs acides gras dont quatre parmi eux sont insaturés (acide oléique, acide linoléique, acide palmitoléique et l'acide linoléique). Les plus abondants acides gras des huiles de noyaux de dattes sont : l'acide oléique, l'acide linoléique, l'acide palmitique, l'acide myristique et l'acide laurique qui composent environ 92% de la totalité des acides gras (BESBES *et al.*, 2004) (annexe 2). Cette étude a montré aussi que ces huiles sont caractérisées par :

- leur coloration jaune intense, ce qui signifie leur richesse en pigments jaunes (caroténoïdes) ;
- leur absorbance en UV-B, UV-A. ils peuvent donc protéger la peau par exemple contre ces radiations ;
- leur stabilité oxydative qui est très élevée par rapport à celle de la majorité des huiles végétales et qui est comparable à celle de l'huile d'olive. La richesse de ces composés cités et leurs propriétés justifie leurs utilisations en cosmétique et en industrie alimentaire (BESBES *et al.*, 2004).

**Tableau VIII :** Composition de noyau de dattes (g/100g).

pays	Variété	eau	cendre	protéines	lipides	glucides	fibres	référence
Mauritanie	nd	7.16	1.22	6.54	8.66	58.90	17.32	MUNIER, 1973.
Irak	nd	6.46	1.12	5.22	8.49	62.51	16.20	DAWSON et ATEN, 1963
Tunisie	Deglet Nour	9.40	1.15	5.56	10.19	83.1	nd	BESBES <i>et al.</i> , 2004
	Allig	8.60	1.12	5.17	12.67	81.0	nd	
AEU	Fard	10.3	1.4	5.7	9.9	Entre	21.9*	HAMADA <i>et al.</i> , 2002
	Khalas	7.1	1.8	6.0	13.2	57.7 et	13.9*	
	Lulu	9.9	1.0	5.2	10.5	68.9	19.5*	

nd : non déterminé ; \* : le pourcentage de l'hémicellulose.

## II- Différentes familles de polyphénols et leurs propriétés physico-chimiques

### 2.1.- Définition

Les Polyphénols (PP) ou les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances découlant du métabolisme secondaire, spécifiques du règne végétal (BRUNTON, 1999 ; S.F.A., 2004 ; DRUZYŃSKA *et al.*, 2007).

La définition de composés phénoliques prend en compte à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique de ces composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau aromatique (benzénique), portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther, ou hétéroside (BRUNTON, 1999 ; KREIF, 2003).

Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus dits mixtes (flavonoïdes) (BRUNTON, 1999; KREIF, 2003 ; TRAVERS, 2004 ; GIROTTI-CHANU, 2006).

### 2.2.- Propriétés physicochimiques

La connaissance des propriétés physicochimiques des PP permet d'interpréter leurs propriétés biologiques (RIBEREAU-GAYON, 1968).

Le groupement fonctionnel caractéristique des phénols est constitué par un hydroxyle (-OH) fixé sur un carbone appartenant lui-même à un cycle benzénique. Donc, il y a des propriétés propres au groupement OH, qui sont affectées par la présence d'un cycle benzénique et des propriétés propres de ce cycle qui sont elles-mêmes influencées par la présence d'un ou de plusieurs groupements OH (RIBEREAU-GAYON, 1968).

#### 2.2.1.- Propriétés propres du groupement OH

##### - Acidité

La coupure hétérolytique de la liaison OH (déprotonisation) entraîne la formation d'un ion phénolate dans lequel la délocalisation électronique de l'atome O vers le cycle est fortement augmentée. Ce phénomène et la forte solvation de l'anion phénolate par formation des liaisons hydrogène avec l'eau permettent d'expliquer les propriétés acides faibles des phénols dans l'eau ( $PK_a$  8-10) (DANGLES, 2006 cité par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

Cette propriété est largement utilisée pour l'étude des spectres d'absorption des produits naturels et pour la révélation des chromatogrammes (RIBEREAU-GAYON, 1968).

#### - Formation de liaisons hydrogène

Comme les alcools, les phénols sont le siège d'association intermoléculaire par liaisons hydrogène ; dans les molécules phénoliques complexes, il peut y avoir des liaisons H intramoléculaires (catéchine). Les liaisons H modifient de nombreuses propriétés physiques, comme les points de fusion et d'ébullition, la solubilité, les spectres dans l'ultraviolet et l'infrarouge (VERMERRIS et NICHOLSON, 2006).

#### - Formation de complexes avec les métaux

Les PP présentant un noyau catéchol où 2 groupements C=O et OH coplanaires et proches forment des chélates avec les ions métalliques à forte charge positive (ex :  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ) moyennant le remplacement d'un ou deux protons de PP par l'ion métallique ce qui exclut les milieux trop acides. Sur le plan nutritionnel, la complexation métallique des polyphénols est susceptible de limiter l'absorption intestinale des ions métalliques d'importance biologique, en particulier ceux du fer (effet antinutritionnel). C'est en revanche un mécanisme possible d'action antioxydante (DANGLES, 2006 cité par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

#### - Formation d'esters et d'éthers-oxydes

Dans la nature, les esters des phénols connus sont l'acide éllagique (combinaisons de l'acide gallique). Les anthocyanines acylés, qui contiennent un acide organique (généralement l'acide cinnamique) quand il est estérifié sur un OH d'un glucide et non sur un OH phénolique. D'une façon générale, les esters des composés phénoliques naturels font intervenir des liaisons entre la fonction acide d'un acide-phénol et un OH alcoolique d'une autre molécule ; le composé phénolique n'intervient pas par sa fonction phénol (RIBEREAU-GAYON, 1968).

Cependant, la formation d'éthers-oxydes est beaucoup plus fréquente dans la nature et plus particulièrement la formation d'éthers-oxydes mixtes entre une fonction phénol et alcool méthylique (RIBEREAU-GAYON, 1968 ; VERMERRIS et NICHOLSON, 2006).

#### - Propriété redox : pouvoir antioxydant, oxydation

##### a) Pouvoir antioxydant

Les PP ont un fort caractère réducteur et donneur d'atome H qui se manifeste par les faibles potentiels redox pour les couples  $ArOH/ArO^\circ$  et des réactions rapides avec les espèces oxygénées réactives (EOR : radicaux oxyl  $RO^\circ$  et peroxy  $ROO^\circ$ , espèce fer-oxo), dont la production excessive (stress oxydant) est impliquée dans le développement de certaines pathologies dégénératives (maladies cardiovasculaires et cancer) (CAI *et al.*, 2004 ;

## 2.3.1.1.- Phénols et acides-phénols

## - Phénols

Les phénols simples (catéchol, phloroglucinol) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae). Les alkylphénols et leurs depsides, issus du métabolisme d'un poly- $\beta$ -céto-ester, sont caractéristiques des lichens. Comme il y a des alcénylphénols (urushiol) et des monoterpènes phénoliques (thymol) (BRUNTON, 1999 ; ŠKERGET *et al.*, 2005 ; MACHEIX *et al.*, 2006 cités par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

## - Acides-phénols

Les acides-phénols se composent de deux sous groupes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et les dérivés de l'acide hydroxycinnamique.

Les acides-phénols en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hytérosides. L'acide gallique et son dimère (acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables.

La plupart des acides-phénols en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (acide 4-coumarique, acide caféïque, acide férulique et l'acide sinapique) ont une distribution très large ; sont souvent estérifiés (BLASUNDRAM *et al.*, 2006 ; BRUNTON, 1999 ; KIM *et al.*, 2006 ; RICHTER, 1993 ; ŠKERGET *et al.*, 2005 ;). La figure 3 illustre quelques exemples d'acides-phénols.

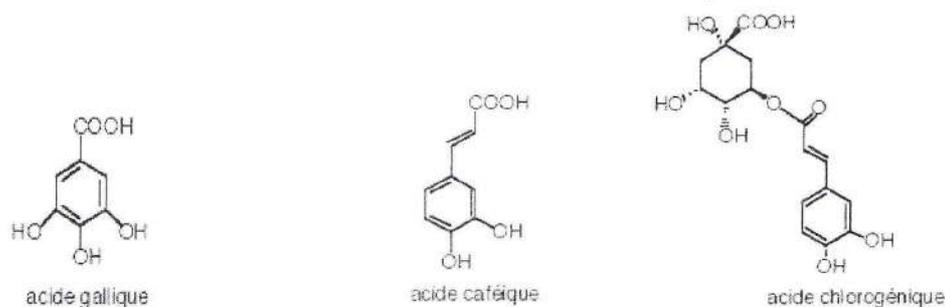


Figure 3: Quelques exemples d'acides-phénols (KREIF, 2003).

## 2.3.1.2.- Coumarines

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, lactones des acides *ortho*-hydroxy-Z-cinnamiques. L'isomérisation de la double liaison E en Z est réalisée par la lumière à 320 nm. Les coumarines de la racine interviennent dans la formation des nodules par les végétaux symbiotiques abritant *Rhizobium*. Dans quelque cas rares, la glycosylation des groupements OH de l'acide 2 hydroxycinnamique intervient, empêche ainsi la lactonisation (KREIF, 2003).

L'esculoside, présent dans l'écorce du Marronnier d'Inde, est considéré comme vasculoprotecteur et veinotonique c'est le principe actif de médicaments anti-hémorroïdaires (KREIF, 2003 ; BONNER et VARNER, 1965).

La prénylation du noyau benzénique des coumarines aboutit à la formation de furano et pyranocoumarines. Elles sont responsables de la photo-toxicité de certains espèces végétales (Apiaceae ou Rutaceae), qui se manifeste par une dermatite aiguë (BRUNTON, 1999). La figure 4 donne la structure de composés coumarines.



Figure 4 : Quelques exemples de coumarines (KREIF, 2003).

### 2.3.1.3.- Lignanes et composés apparentés

Les lignanes résultent de la condensation d'unités phénylpropanoïque. Ce sont des constituants du bois de cœur, on les trouve associés à la lignine. Quatre groupes peuvent être distingués : les lignanes (liaison entre deux carbones  $\beta$  des chaînes latérales de deux unités dérivés du phénylpropanes), les néolignanes (un seul  $C_\beta$  est en jeu), les oligomères (condensation de 2 à 5 unités de phénylpropanes) et enfin les norlignanes avec un squelette en  $C_{17}$  (illustration par la figure5).

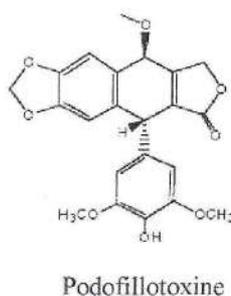


Figure 5 : Un exemple de lignane (KREIF, 2003).

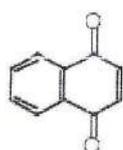
Les néolignanes sont surtout présents chez les espèces primitives (Magnoliales, Pipérales) alors que les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes (BONNER et VARNER, 1965 ; RIBEREAU-GAYON, 1968 ; BRUNTON, 1999).

## 2.3.2.- Polyacétates ou polykétides

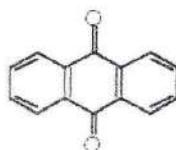
Résultant de l'union de plusieurs unités d'acétyl-CoA, leur réarrangement conduit à de nombreux métabolites importants. Les acétogénines dérivent de l'acétyl-CoA et sont apparentés aux acides gras. Ce sont des composés aliphatiques à longue chaîne (35 à 37 carbones) terminée par une lactone. Rencontrés quasi-exclusivement dans la famille des Annonaceae, les acétogénines ont des propriétés pharmacologiques variées, liées à leur toxicité (BRUNTON, 1999 ; KREIF, 2003).

## 2.3.2.1.- Quinones

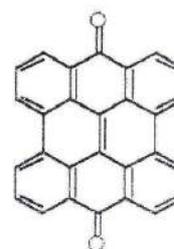
Les quinones proviennent de nombreux précurseurs de différentes voies de biosynthèse. Le potentiel redox du couple quinone/hydroquinone est très important dans de nombreux systèmes biologiques (LOUIS, 2004). Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques et qui sont caractérisés par un motif 1,4-dicétylcyclohexa-2,5-diéniq (para-quinone) ou par un motif 1,2-dicétylcyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinone), illustration par la figure 6. Les quinones naturelles ont leur dione conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé naphthalène (naphtoquinones), anthracène (anthraquinones), 1,2-benzanthracène (anthracyclinones), naphtodianthrène (naphtodianthrones), pérylène, phénanthrène. On peut aussi s'attendre à trouver le motif quinonique dans différentes classes de métabolites secondaires, par exemple à squelette terpénique ; présents en particulier chez les Lamiaceae. Plus rarement, le motif quinone peut être associé à un hétérocycle azoté (carbazolquinones) (BRUNTON, 1999).



Naphthoquinone



Anthraquinone



Naphtodianthrone

**Figure 6 :** Quelques motifs quinoniques (KREIF, 2003).

Les benzoquinones simples, caractéristiques des Anthropodes, sont assez rares chez les végétaux supérieurs, nombres limites des familles (Myrsinaceae, Primulaceae, Borraginaceae). La distribution des naphtoquinones, limitée chez les champignons, est sporadique chez les Angiospermes. Les anthraquinones ont une distribution assez large :

champignons et lichens, et dans un petit groupe de famille d'Angiospermes (à l'état d'hétérosides) (BRUNTON, 1999).

### 2.3.2.2.- Orcinoles et phloroglucinoles

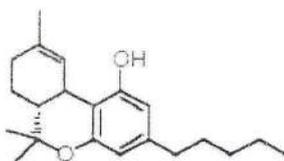
Les constituants les plus intéressants de chanvre sont les cannabinoïdes, qui sont des terpéno-phénols classés en plusieurs groupes en fonction de leur structure.

Les principaux représentants de ce groupe sont :

- Le  $\Delta^9$  tétrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC ou THC), benzotetrahydropyranique ;
- Le cannabinoïde (CBN), dibenzopyranique (produit de dégradation du précédent) ;
- Le cannabidiol (CBD, diphénolique).

Les cannabinoïdes et en particulier le THC responsable des changements de perception sensorielle, spatiale et temporelle (perturbation de la coordination motrice) et de l'altération de la communication orale.

Le phloroglucinole est le principe actif antispasmodique (Spasfon®) de l'aubier du tilleul et parmi les dérivés du phloroglucinole, on peut signaler des benzophénones de Clusiaceae comme le xanthochymol (KREIF, 2003). La figure 7 illustre un exemple de constituant cannabinoïde.



Tetrahydrocannabinol

Figure 7 : Exemple d'orcinoles (KREIF, 2003).

### 2.3.3.- D'origine mixte

L'allongement des composés de type Ar-C<sub>3</sub> par addition successive d'unités dicarbonées est un processus fréquent chez les végétaux : il est à l'origine des styrylpyrones (Ar-C<sub>3</sub> + 2 x C<sub>2</sub>), des stilbénoides, des flavonoïdes et des isoflavonoïdes (Ar-C<sub>3</sub> + 3 x C<sub>2</sub>) (BRUNTON, 1999). Quelques exemples sont illustrés par la figure 8.

Le mécanisme de l'addition des unités dicarbonées sur la chaîne latérale des acides cinnamiques est tout à fait similaire au processus d'allongement des polyacétates : la molécule initiatrice est convertie en ester du coenzyme A et les éléments dicarbonés sont apportés sous la forme activée de malonyl-coenzyme A (BRUNTON, 1999 ; KREIF, 2003).

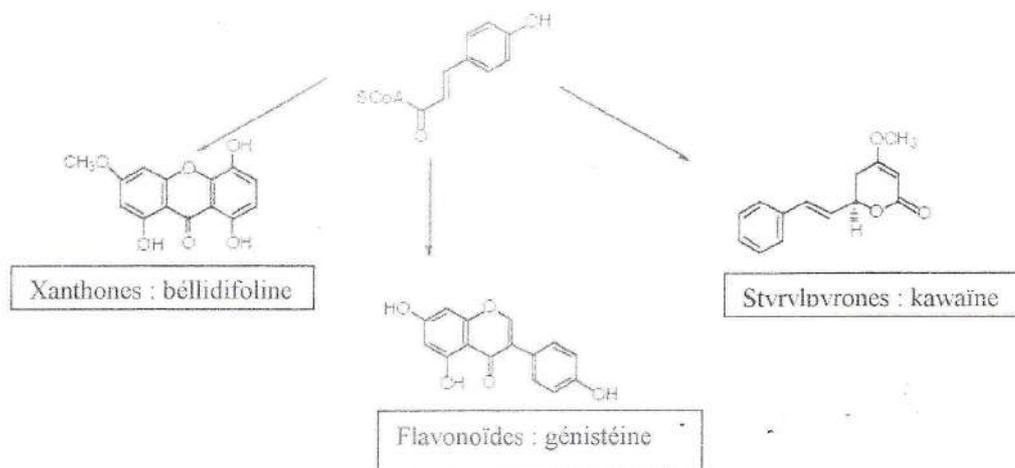


Figure 8 : Exemples de dérivés d'extension du phénylpropane (HOFFMANN, 2003 ; KREIF, 2003).

### 2.3.3.1.- Les flavonoïdes :

De structure générale en  $C_{15}$  ( $C_6-C_3-C_6$ ), l'ensemble des flavonoïdes comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes dont certaines ont une très grande importance biologique et technologique comme les anthocyanes, pigments rouges ou bleus des fleurs et des fruits (KONG *et al.*, 2003), les flavonols (par exemple kampférol et la quercétine dont la répartition est très large), les flavones, les flavanones, les isoflavones et les flavanes qui sont à l'origine des tanins condensés (ALASAVAR *et al.*, 2005 ; GIROTTI-CHANU, 2006 ; MACHEIX *et al.*, 2006 cités par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006 ; PERRET, 2001). La figure 9 donne la structure de base des flavonoïdes.

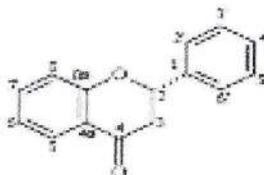


Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes (noyau phényl-2-chromane) (PERRET, 2001).

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en position 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5'. Fréquemment, un ou plus de ces groupes d'hydroxyles sont méthylés, acétylés, prénylés ou sulfates. Ils sont souvent présents comme O- ou C- glycosides ; la liaison O- (position 3 ou 7) est plus fréquente que la liaison C- (position C<sub>6</sub> ou C<sub>8</sub>). Les plus communs carbohydrates sont : le rhamnose, le glucose, le galactose et l'arabinose (de RIJKE *et al.*, 2006 ; LOUIS, 2004). Les flavonoïdes sont utilisés dans la classification des plantes comme marqueurs taxonomiques (LHUILIER *et al.*, 2007).

### 2.3.3.2.- Les stilbénoides

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule. Les plus abondants dans le raisin sont le *trans*-resvératrol et son dérivé glucosylé : le picéide, ainsi que les dimères : le resvératrol *trans*-déhydrodimère et l'e-viniférine (PERRET, 2001). La figure 10 donne la structure chimique du resvératrol.



Figure 10 : Structure chimique de resvératrol (PERRET, 2001).

### 2.3.3.3.- Les xanthones :

Les aglycones et les *o*-hétérosides ont une distribution restreinte à un petit nombre de familles (principalement les Clusiaceae et les Gentianaceae) alors que les *c*-glycosylxanthones sont plus fréquents (ils ont été identifiés dans une vingtaine de familles) (BRUNTON, 1999).

### III.- Polyphénols des dattes

#### 3.1.- Différentes classes de PP

Plusieurs études ont été effectuées sur la composition chimique de dattes (SAWAYA *et al.*, 1983a ; SAWAYA *et al.*, 1983b ; KHATAB *et al.*, 1983 ; AHMED *et al.*, 1995 ; SOLIMAN, 2006 ; AL-FARSI *et al.*, 2007 ; ELLEUCHE *et al.*, 2008), mais peu d'études se sont intéressées par le profil phénolique de dattes (MANSOURI *et al.*, 2005) et de l'évolution de la teneur en polyphénols au cours de différents stades de maturité ( EL-OGAIDI et MUTLAK, 1986). Les PP rencontrés dans les dattes peuvent se classer en trois groupes : les acides-phénols, les flavonoïdes et les tanins.

##### 3.1.1.- Acides-phénols

Sept acides-phénols sont identifiés chez la variété Deglet Nour qui sont : l'acide protocatéchique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide syringique, l'acide vanillique, l'acide caféique, l'acide *p*-coumarique et l'acide férulique, dont ce dernier a la concentration la plus élevée (REGNAULT-ROGER *et al.*, 1987).

En 2005, MANSOURI et ses collaborateurs ont étudié les acides-phénols de sept variétés algériennes. Les plus apparents composés chez toutes les variétés sont l'acide cinnamique et ses dérivés (l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinapique). En plus, ils ont montré aussi la présence de composés caractéristiques de la famille de *Palmae* dans toutes les variétés, qui est l'acide 5-*o*-cafféoylshikimique (ou l'acide dactyliférique) (HARBORNE *et al.*, 1974), à l'exception de la variété Tazizaout. L'acide hydrocaféique est détecté chez les variétés Tantboucht, Tafizaouine, Tazerzait et Tazizaout. Alors que les variétés Deglet Nour et Tazerzait sont caractérisées par la présence de l'acide commaroylequinique (MANSOURI *et al.*, 2005).

##### 3.1.2.- Flavonoïdes

Dans ce groupe on distingue des flavones, des flavonols et des flavonones. La plupart des flavonoïdes sont des flavones. En terme de nombre de différents flavonoïdes détectés, les variétés Deglet Nour, Tazizaout et Ougherouss semblent être les plus riches. Alors que, la variété Tazerzait est la plus pauvre, où 3 flavones ont été détectés (MANSOURI *et al.*, 2005).

##### 3.1.3.- Tanins

Presque toutes les dattes sont astringentes au stade Kh'lal (Kimri) en raison de la présence d'une couche de tanins un peu au dessous de la peau.

Dans quelques variétés, la datte verte n'est pas astringente. Tel est le cas pour les variétés de la Chirâni de Bassora, de la Dowiki de l'Egypte, de Tâliss du Fezzan, de l'Arechti du Sahara et de l'Arsébabo du Tibesti (Tchad).

d'aluminium, ce qui nous permet de mesurer ensuite les facteurs de rétention  $R_f$  de différents constituants.

## 2.6.- Activité biologique

### 1.6.1.- Mesure de l'activité anti-oxydante par le test du 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS)

Le test d'ABTS est un essai de décoloration qui mesure la capacité d'un anti-oxydant de réagir avec les radicaux cations  $ABTS^+$  produits par voie chimique. Le radical cation  $ABTS^+$ , à une couleur vert-bleu caractéristique, devient incolore quand il est réduit par des substances donneuses des protons. Cette méthode quantifie la capacité de piéger les radicaux en mesurant l'absorbance du mélange réactionnel anti-oxydant/radical par spectrophotomètre à 734 nm. Les résultats sont exprimés par référence à un standard, qui est communément le Trolox (MOORE et YU, 2006 cités par YU, 2006).

Cette méthode est une variation de l'essai TEAC (la capacité anti-oxydante équivalente de Trolox) qui est rapporté pour la première fois par MILLER et al. (1993). Dans cet essai l'ABTS<sup>+</sup> est généré par voie enzymatique (l'analyse de ferrylmyoglobine/ABTS). Des approches alternatives rapportées pour la génération ABTS<sup>+</sup>, ont inclus l'oxydation d'ABTS avec le peroxyde de manganèse ou persulfate de potassium (MILLER *et al.*, 1996). La figure 16 illustre la structure de l'ABTS.

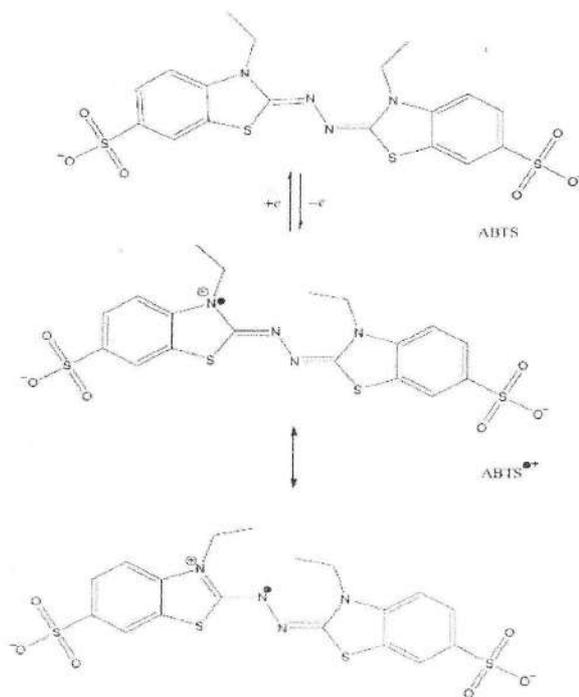


Figure 16 : Structure d'ABTS et de son radical cation  $ABTS^+$  (YU, 2006).

#### IV.- Activités biologiques des polyphénols

##### 4.1.- Généralités sur le rôle biologique des PP

Les plantes sont des organismes sédentaires, et dans leur environnement, elles sont sujettes à une multitude de stress de nature abiotique et biotique. Parmi les facteurs abiotiques, on trouve notamment les températures extrêmes, les rayonnements U.V., les carences ou les excès en éléments minéraux essentiels ou toxiques. Les végétaux sont également au contact de nombreux micro-organismes tels que les champignons, les bactéries et les virus, dont certains sont pathogènes. Cependant, elles ont élaboré des systèmes d'adaptation et de défense efficace leur permettant le plus souvent de tolérer et de résister à toutes les agressions extérieures (HOFFMANN, 2003).

Les métabolites secondaires ne sont pas impliqués seulement dans la défense et protection contre les agents biotiques et abiotiques mais aussi dans des fonctions diverses telles que la fertilité, la pigmentation, la lignification ou encore la signalisation (BALASUNDRAM *et al.*, 2006 ; HOFFMANN, 2003 ; NACZK et SHAHIDI, 2004).

En plus, ces composés peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine comme anti-microbiens (PRADHAN *et al.*, 1999), anti-inflammatoires (KÜPELI *et al.*, 2007) et anti-tumoraux (KUETE *et al.*, 2008).

##### 4.1.1.- Activité anti-microbienne

L'apparition et l'augmentation de la résistance aux médicaments anti-microbiens disponibles ont accentué le besoin de découvrir et de développer de nouvelles substances anti-microbiennes. La richesse de la biodiversité végétale et la connaissance des thérapeutiques traditionnelles sont susceptibles d'ouvrir de nouvelles voies pour la thérapie anti-microbienne (LAGNIKA, 2005).

De nombreuses études ont montré l'effet anti-microbien des PP sur différents bactéries, virus et champignons, elles sont décrites en détail ainsi que les différentes espèces des microbes sensibles (ROUHA *et al.*, 2000 ; PANIZZI *et al.*, 2002 ; ALVESALO *et al.*, 2006 ; ANAND *et al.*, 2006 ; CHARKRABORTY et MITRA, 2008 ; ZAIDI -YAHIAOUI *et al.*, 2008). Parmi les PP, qui ont une activité anti-microbienne contre *Helicobacter pylori* (bactérie responsable des ulcères gastriques), les acides-phénols d'origan (*Oreganum vulgare*) sont efficaces (CHUN *et al.*, 2005). GATTO et ses collaborateurs (2002), ont confirmé l'activité anti-HIV de la quercétine, en plus, ils ont aussi décrit son activité inhibitrice de la lipase de *Candida rugosa*. Les PP des feuilles de noix inhibent seulement les bactéries Gram positif (*Bacillus cerus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) (PEREIRA *et al.*, 2007). Certaines espèces végétales et herbes développent une propriété antifongique contre

#### 4.1.3.- Activité anti-tumorale

Une tumeur est le résultat d'une prolifération excessive et incontrôlée des cellules devenues anormales et résistantes à la destruction par apoptose ou par le système immunitaire (lymphocyte T cytotoxique, les cellules killer naturelles) (BERAUD, 2004). Elle est traitée par les anti-cancéreux qui sont toxiques à la fois pour les cellules tumorales et pour les cellules saines en division (BERAUD, 2004).

En plus de nombreux effets indésirables des anticancéreux, le problème le plus important de la chimiothérapie de cancer est l'apparition de la résistance multi-drogues associée aux récepteurs membranaires (ex : P-glycoprotéine) d'où la nécessité de rechercher des composés qui ont le pouvoir de détruire ces tumeurs résistantes (SKUPIENÍ *et al.*, 2006).

Des expérimentations *in vitro* ont été menées sur des lignées cellulaires tumorales, afin d'étudier l'effet des métabolites secondaires (surtout les PP) sur le développement des cellules cancéreuses dans les milieux de cultures. Utilisant des extraits de PP des feuilles de myrtille, fraise et framboise, ces essais ont montré que l'extrait de myrtille est le plus efficace contre la lignée cellulaire sensible de leucémie HL60, alors que les extraits de fraise et de framboise présentent une activité cytotoxique élevée contre la lignée cellulaire HL60 sensible ainsi que les lignées résistantes (SKUPIENÍ *et al.*, 2006).

Les PP peuvent jouer un rôle protecteur contre l'induction du cancer par leur action sur les agents chimiques carcinogéniques (KHAN *et al.*, 1988).

#### 4.1.4.- D'autres activités biologiques

Les activités biologiques des PP et leur rôle dans la prévention de certaines maladies ont été prouvés par plusieurs études. En effet, l'extrait aqueux des feuilles de *Taminalia catappa* fait protéger *in vivo* le foie contre la toxicité de D-galactosamine/lipopolysaccharide (KINOSHITA *et al.*, 2007). Une autre étude *in vivo* a montré l'effet modulateur des acides-phénols (acide hydroxybenzoïque, acide gentisique, acide féréulique, acide gallique et acide *p*-coumarique) sur la phénol-sulfotransférase (enzyme de détoxification de la phase II dans le foie) (YEH et YEN, 2006).

KONAN et BACCHI (2007) ont suggéré que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Anacardium occidentale* L. (riche en polyphénols) fait inhiber les lésions gastriques induites par HCl/éthanol chez les rats (KONAN et BACCHI, 2007). En outre, les PP servent potentiellement d'outils thérapeutiques efficace pour les maladies d'allergie (LI *et al.*, 2005 ; ENOMOTO *et al.*, 2006).

Enfin, les PP peuvent aussi intervenir dans la prévention d'autres maladies telles les maladies cardiovasculaires comme vaso-dilatateurs (GHEDIRA, 2005), inhibiteurs de l'oxydation de LDL (intervient dans l'athérosclérose) (MEYER *et al.*, 1998 ; YU *et al.*, 2005 ; CHANG *et al.*, 2008).

#### 4.2.- Activités biologiques des polyphénols de dattes

##### 4.2.1.- Activité anti-oxydante

L'oxygène, bien que molécule indispensable à la vie, est susceptible d'induire des effets endommageants dans l'organisme. L'effet endommageant de l'oxygène est dû à la formation de radicaux (FRELON, 2001). L'ensemble de radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé **espèces réactives de l'oxygène ERO** (FAVIER, 2003).

A l'état normal, les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transformation des signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certaines neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes (FAVIER, 2003). Afin que les ERO n'exercent pas de façon incontrôlée leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un vaste réseau de défense : les anti-oxydants. Il existe deux sources de défenses anti-oxydantes : l'une est apportée par l'alimentation sous forme des fruits et de légumes riches en vitamines (C, E), caroténoïdes, ubiquinones, flavonoïdes tandis que l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) ou de protéines (ferritine, transferrine). A cela s'ajoutent quelques oligo-éléments comme le sélénium et le zinc qui sont des co-facteurs importants pour l'activité de certaines enzymes anti-oxydantes (FAVIER, 2003 ; PINCEMAIL *et al.*, 2004 ; SOARES, 2005).

A l'état de déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par les systèmes de défense anti-oxydantes, il y a une production excessive des ERO qui provoquent des lésions de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides). Cet état de déséquilibre est nommé le **stress oxydant** (FAVIER, 2003 ; GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, 2006). Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies incluant l'obésité, diabète de type 2, l'athérosclérose (SOARES, 2005), le cancer, la cataracte, les maladies cardiovasculaires, le vieillissement accéléré (FAVIER, 2003) et l'Alzheimer (ZAFRILLA *et al.*, 2007).

Les causes essentielles de stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans le cas de carence en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharge en facteurs prooxydants (fer, acides gras...), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants...), soit d'origine génétique. Le plus souvent l'association de ces facteurs aboutira au mécanisme pathogène (FAVIER, 2003).

Selon de nombreuses études épidémiologiques, les anti-oxydants d'origine naturelle (légumes et fruits) semblent contribuer de manière significative à la prévention de ces maladies (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002). Les anti-oxydants peuvent réagir sur plusieurs niveaux :

- **Interruption de la chaîne de propagation des réactions radicalaires :**

Les PP stabilisent les peroxydes lipidiques  $\text{LOO}^\circ$  sous forme d'hydroperoxydes  $\text{LOOH}$  en leur cédant un hydrogène (réactions 1), et le radical phénolique formé est fortement stabilisé par mésomérie. Le radical phénolique peut également freiner la phase de propagation en formant un produit d'addition chimiquement stable avec les radicaux lipidiques formés (réaction 2, 3 de la figure n° ?) (BERSET, 2006, cité par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).



**Figure 11:** Réactions de freinage de propagation radicalaire par les polyphénols (BERSET, 2006, cité par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

- **Désactivation des espèces réactives de l'oxygène (ERO):**

Plusieurs auteurs ont montré la capacité des PP de piéger les ERO (YOUSFI *et al.*, 2006 ; ZHAO *et al.*, 2006 ; WANG *et al.*, 2008 ; KUMARI ET KAKKAR, 2008).

- **Chélation des métaux de transition :**

Les métaux de transition constituent une grande famille de composés ayant chacun des propriétés spécifiques en fonction de la structure électronique de leur sous couche d (FRELON, 2001). Ils génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive  $\text{H}_2\text{O}_2$  par réaction appelée **réaction de FENTON** (FAVIER, 2003). Ils sont d'ailleurs souvent rencontrés au niveau du site réactif d'oxydases et d'oxygénases (FRELON, 2001). Les PP ont des structures particulières qui leur confèrent non seulement la capacité de piéger les radicaux libres mais aussi la chélation des métaux de transition et de prévenir donc contre la formation des radicaux libres (RICE-EVANS *et al.*, 1995 ; BERSET, 2006 cité par SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006 ; WANG *et al.*, 2008).

**Partie expérimentale :****I.- Présentation de la zone d'étude**

La wilaya d'Ouargla est située au Sud-Est du Pays couvrant une superficie de 163.230 km<sup>2</sup>. Elle est limitée :

- Au nord : par les wilayate de Djelfa, d'El-Oued et de Biskra ;
- A l'est : par la Tunisie ;
- Au sud : par les wilayate de Tamanrasset et d'Ilizi ;
- A l'Ouest : par la wilaya de Ghardaïa (D.P.A.T., 2006).

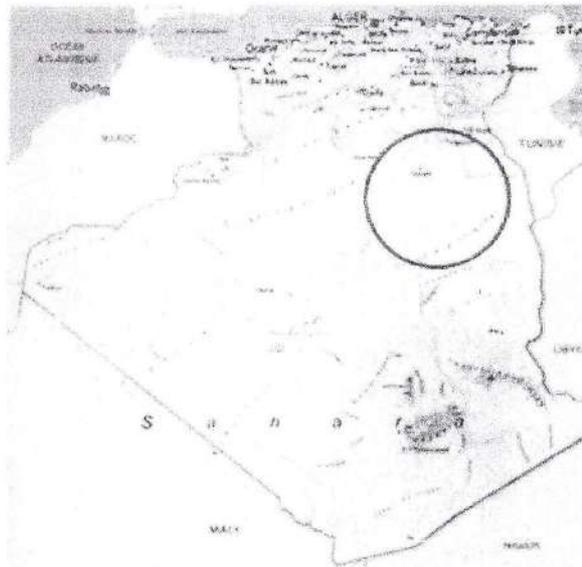


Figure 12 : La zone d'étude.

## II.- Matériels et méthodes d'analyse

### 2.1.- Matériel végétal

#### 2.1.1.- Variété de datte

Parmi les variétés cultivées dans la région d'Ouargla, la variété *Ghars* fait l'objet de l'étude concernant l'évolution de la teneur en PP des dattes en fonction de stade de la maturité.

#### 2.1.2.- Stades de développement :

Cinq stades du développement sont définis (Fig.13) et représentés par les caractéristiques suivantes :

- Au stade "Hababouk", les fruits ont une forme sphérique et une couleur qui varie entre le crème et vert clair (C).
- Au stade Kimri 1, les fruits sont plus gros et prennent une teinte vert-pomme (D).
- Au stade Kimri 2, les fruits sont allongés de couleur verte (E).
- Au stade Khalal, la couleur des fruits est jaune (F).
- Au stade Routab, les fruits commencent à s'amollir au sommet (G).
- Au stade Tmar, la couleur devient brune plus ou moins sombre (H).

En plus, un prélèvement des fleurs de palmier dattier (male "A" et femelle "B") a été effectué.

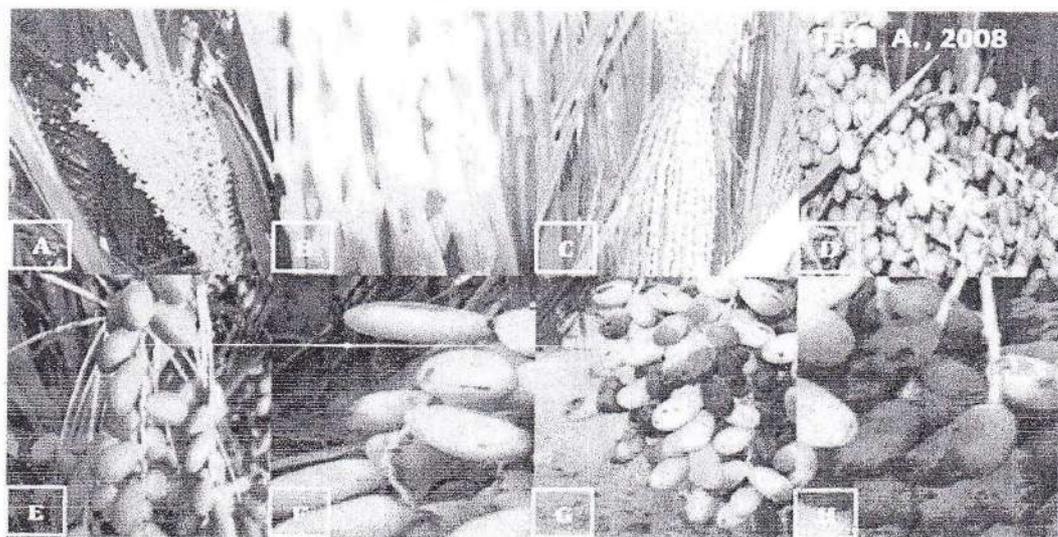
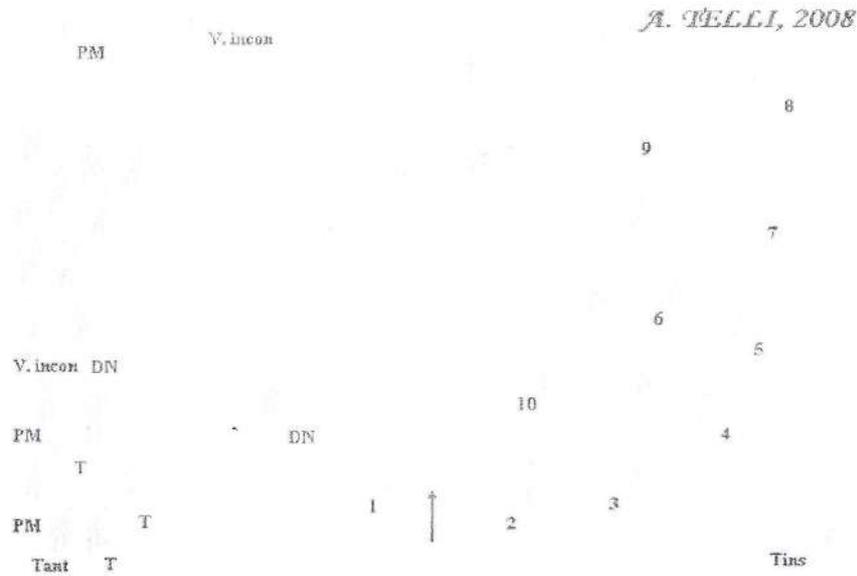


Figure 13 : Différents stades de maturité de dattes et des fleurs mâles et femelles de la variété *Ghars*.

#### 2.1.3.- Récoltes des fruits

Les échantillons de dattes, récoltés à différents stades de maturité, proviennent de la palmeraie de Ben Cheikh à El-hadjira (fig. 14). Dans cette palmeraie, dix palmiers dattiers de la variété *Ghars* ont été choisis pour le prélèvement des échantillons.



**Figure 14 :** Cartographie du positionnement des palmiers dattiers choisis (portant les numéros de 1 à 10 de la variété *Ghars*) dans la palmeraie.

DN : *Daglet Nour* ; PM : pieds males ; T : *Tafeziouine* ; Tant : *Tantbouchete* ; Tins : *Tinslite* ; V. incon : variété inconnue ; ↑ le rentré de la palmeraie.

Au cours de chaque stade, on prélève environ 600 g de dattes/ palmier dattier qui sont fractionnés par échantillon de 100 g et mis dans un sac de papier portant les indications du nombre de prélèvement, du régime et du palmier dattier. Les fruits sont dénoyautés, découpés, congelés et lyophilisés. Les différents stades de prélèvement sont résumés dans le tableau IX.

**Tableau IX :** Période de prélèvement des échantillons en fonction du stade de maturité des dattes de la variété *Ghars* durant la saison 2007/2008.

Période	Stade de maturité	Quantité/palmier	Nombre de prélèvement/palmier
02 Avril	Hababouk ou Loulou	600 g/ palmier	6
14 Mai	Kimri I ou Kh`lal I	600 g/ palmier	6
14 Juin	Kimri II ou Kh`lal II	600 g/ palmier	6
17 Juillet	Khalal ou Bser	600 g/ palmier	6
15 Août	Routab ou Mertouba	600 g/ palmier	6
15 Septembre	Tmar	600 g/ palmier	6
7 Octobre	Tmar	600 g/ palmier	6

- **et le temps d'extraction** (30 min, 1h, 3h, 5h, 7h, 9h) en utilisant deux alcools : méthanol et éthanol.

L'évaluation a porté sur la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux.

### **2.3.3.- Extraction des PP**

L'extraction est effectuée selon la méthode utilisée par BIGLARI et al. (2008) avec certaines modifications. Dix (10g) de dattes lyophilisés et broyés sont extraits par 60 ml de méthanol/eau (4/1, v/v) à la température ambiante pendant 5 heures avec agitation. Puis le mélange est filtré. Le filtrat est concentré sous la pression réduite à 40°C par le rotor vapor (IKA-WERKE- RV 06-ML). L'extrait brut obtenu est conservé dans des contenants en verre sombres à 4°C.

### **2.3.4.- Extraction liquide-liquide**

L'extraction liquide-liquide a été effectuée afin de caractériser les extraits obtenus par chromatographie sur couche mince (CCM). Les extraits de PP proviennent de 100g de dattes lyophilisées. L'extrait brut obtenu subit des extractions successives par l'acétate d'éthyle (3 fois) et le butanol-1 (3 fois). Puis, le dosage des flavonoïdes de chaque fraction est évalué durant tous les stades.

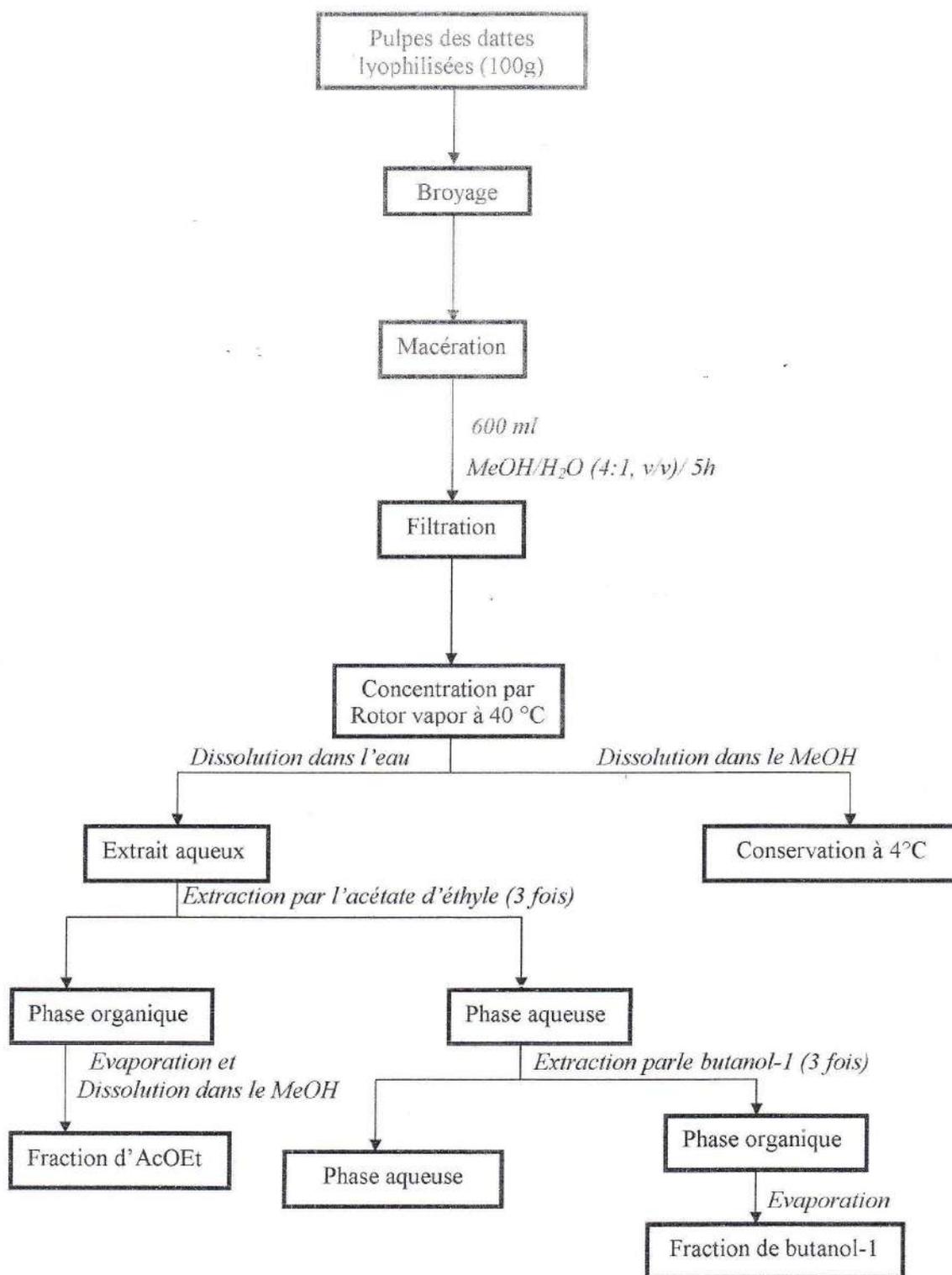


Figure 15 : Différentes étapes d'extraction des polyphénols de dattes.

dissout dans une solution de SDS (1%). 1 ml de chlorure de fer (0,01 N) est ajouté. Au bout de 15 min la lecture de l'absorbance est effectuée à 510 nm par un spectrophotomètre (WPA-BIOCHROM) (KUMARI et KAKKAR, 2008). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique (EAT) par 10 g de poids sec de matériel végétal.

## 2.5.- Méthode d'identification des PP

### 2.5.1.- Chromatographique sur couche mince

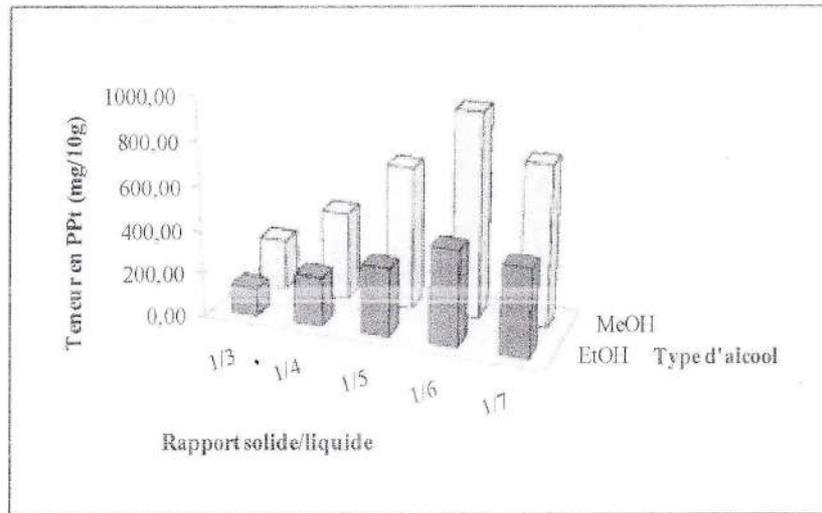
La chromatographie est aujourd'hui, une méthode analytique largement utilisée pour la séparation, l'identification et éventuellement le dosage des constituants chimiques dans des mélanges complexes. La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel (LAGNIKA, 2005). Cette méthode a été utilisée pour l'identification des PP à différents stades de maturation des dattes.

Dans le présent travail, nous avons utilisé des réactifs adaptés à la CCM. Le principal réactif de pulvérisation utilisé est :

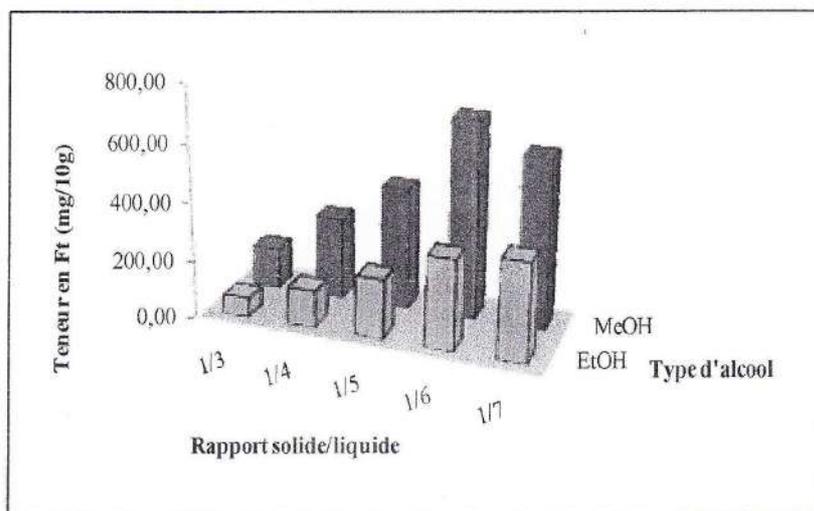
- *Chlorure d'aluminium*

La solution est préparée à partir de 1g de chlorure d'aluminium dans 100 ml d'éthanol. La solution est stockée à 4°C. Pour réaliser ce test, la solution de chlorure d'aluminium est pulvérisée sur le chromatogramme puis séché. Ce dernier peut être observé à la lumière UV (365 nm) ou dans le visible. A 365 nm, on observe une fluorescence allant du bleu au brun. Dans le visible, on observe une coloration jaune. Cette coloration est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (LAGNIKA, 2005).

Dans cette technique, les plaques que nous avons utilisées sont des plaques en verre de gel de silice 60 F254 (Merck). L'échantillon à séparer est solubilisé dans le méthanol. Il est ensuite déposé sur la plaque à l'aide des tubes capillaire. La plaque est développée dans une cuve saturée contenant l'éluant constitué de l'acétate d'éthyle/acide formique/eau (6.5/1.5/2 : v/v/v). La plaque est séchée à température ambiante. On examine les taches des constituants sous lumière UV puis on révèle la plaque par pulvérisation avec le réactif de chlorure



**Figure 22 :** Influence de type de solvant et de rapport solide/liquide sur la teneur en PpT de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.



**Figure 23 :** Influence de type de solvant et de rapport solide/liquide sur la teneur en Ft de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

Le radical ABTS<sup>+</sup> est produit en réagissant un volume de 7mM d'ABTS [2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)] avec un volume de 2,45 mM de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) à l'obscurité pendant 16 heures à la température ambiante. La solution d'ABTS<sup>+</sup> est diluée par le méthanol (80%) pour obtenir l'absorbance de 0,700 ± 0,005 à 734nm. On ajoute à la solution d'ABTS<sup>+</sup> (3,9 ml ; de 0,700±0.005 d'absorbance) 0,1 ml d'une solution d'échantillon testé puis mélangé vigoureusement. Le mélange réactionnel est laissé reposer à 23°C pendant 6 min, l'absorbance est immédiatement enregistrée à 734 nm. La courbe d'étalonnage est obtenue par l'utilisation de la solution de Trolox standard aux différentes concentrations (entre 10 et 140 µM) dans 80% de méthanol. L'absorbance de la réaction de l'échantillon est comparée à celle du Trolox standard et les résultats sont exprimés en équivalent de Trolox standard par gramme de poids de matériel végétal (MOORE et YU, 2006 cités par YU, 2006).

### **2.7.- Test de dégustation**

Le test de dégustation des dattes est effectué durant chaque stade avec dix personnes (3 hommes et 7 femmes) en se basant sur le pouvoir astringent. L'âge des personnes choisies est compris entre 27 à 35 ans. Le pouvoir astringence des dattes est déterminé en utilisant une solution d'acide tannique (1 mg/ml) comme référence de ce goût. La durée entre la dégustation de la solution d'acide tannique et les fruits de dattes est une demi heure.

### **2.8.- Analyses statistiques**

Les analyses de variances (à deux et à trois facteurs) sont réalisées sous STATITCF ainsi que les tests de comparaisons de moyennes (test de Newmann-Keuls et test de Fischer au seuil de 5%). L'analyse en composantes principales est effectuée par XLSTAT.

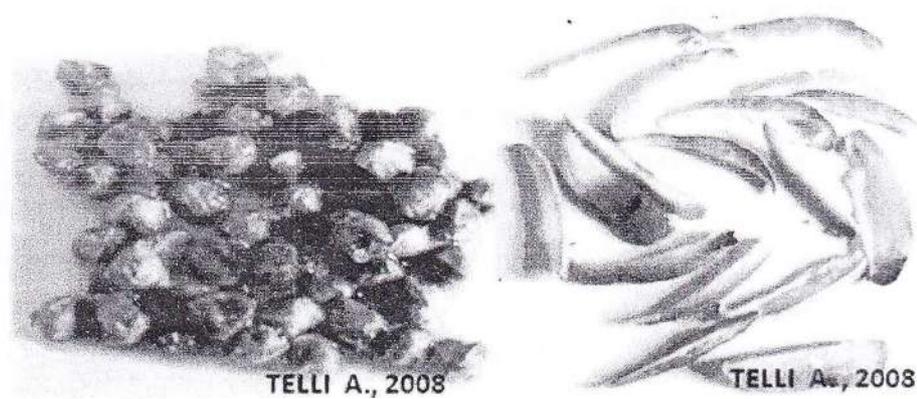
## II- Résultats et discussion

### 2-1 Matériel végétal

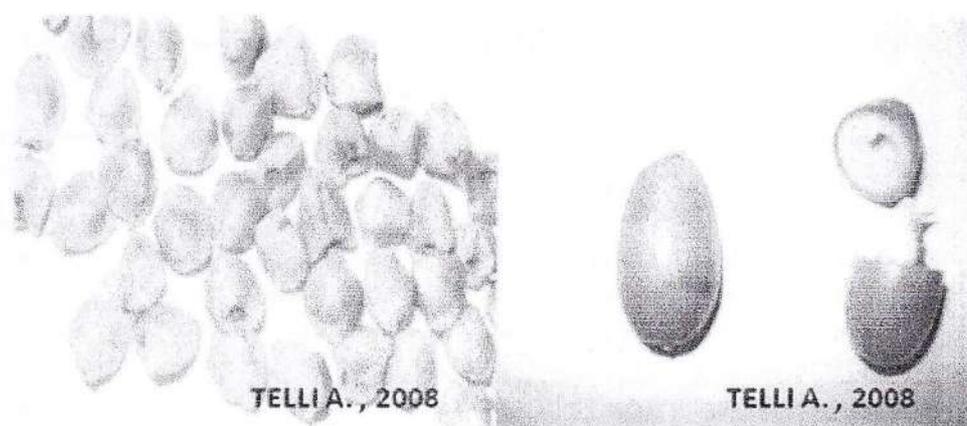
#### 2.1.1- Récolte du matériel végétal et lyophilisation

Les dattes sont récoltées entre le mois d'Avril et le mois d'Octobre 2008. Elles ont été conservées à  $-18^{\circ}\text{C}$  après avoir été dénoyautées et découpées.

Au cours des premières récoltes, nous avons observé que les échantillons décongelés, en vue de leur extraction, ont brunis (Fig. 17 et 18). Certains échantillons ont brunis même pendant la congélation à cause de l'instabilité de la température de congélation.



**Figure 17 :** Brunissement des fruits de dattes après la décongélation (Hababouk ou Loulou à gauche) et au cours de la congélation (Kimri II ou Kh'lal II à droite).



**Figure 18 :** Fruits à l'état frais (Hababouk ou Loulou à gauche et Kimri ou Kh'lal à droite).

Le phénomène de brunissement est dû à l'oxydation par voie enzymatique (polyphénol-oxydase, peroxydase) des composés phénoliques, et que ce phénomène est accéléré dès que l'intégrité cellulaire est atteinte (coupure, congélation...) (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006 ; VERMERRIS et NICHOLSON, 2006). Celle-ci a été prouvée par les travaux de SHOMER et al. (1998) sur les dattes de la variété (Madjhou), où la congélation à ou en dessous de  $-18^{\circ}\text{C}$  conduit à la rupture de différents compartiments cellulaires, ce qui a peut être mis en contact les enzymes d'oxydation et leurs substrats en présence de l'oxygène.

Au vu de ce brunissement, nous avons opté pour une méthode qui nous permet de conserver au mieux nos échantillons avant de pratiquer l'extraction des principes actifs. La lyophilisation, qui consiste à déshydrater sous vide un produit congelé (REY, 1960), a été utilisée dans ce travail afin de diminuer l'activité de l'eau ( $a_w$ ) ce qui, par conséquent, fait diminuer l'activité des enzymes. Les échantillons lyophilisés sont conservés à la température ambiante dans des contenants en verre sombre, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

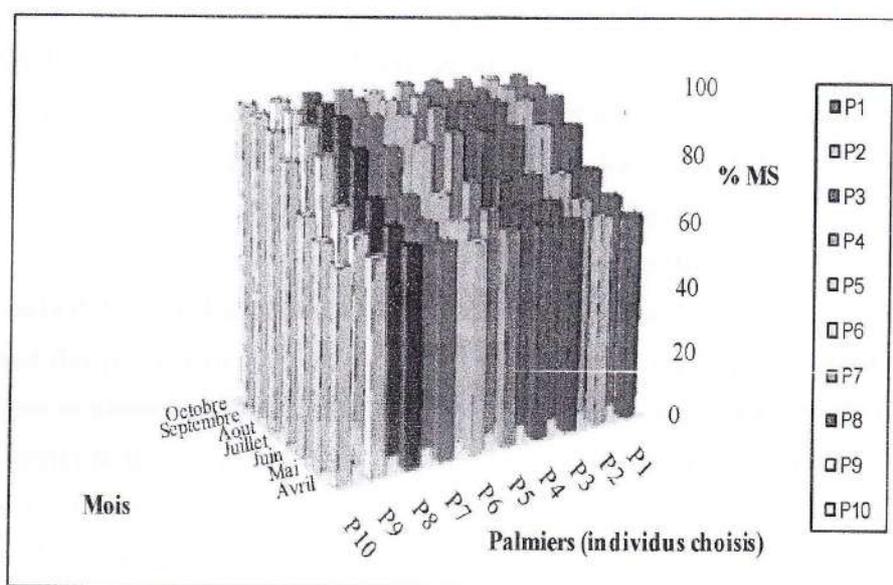
## 2.2.- Teneur en matière sèche

L'objectif de la détermination de la teneur en matière sèche MS est de permettre la mesure de la teneur en polyphénols totaux (PPt) et en flavonoïdes totaux (Ft) de dattes en fonction de l'unité du poids sec de fruits. Les résultats obtenus sur l'évolution de la teneur en matière sèche sont donnés par le tableau X et ne concerne que les dattes lyophilisées.

**Tableau X :** Evolution de la teneur en MS (%) au cours de la maturation des dattes (moyenne de six essais) de la variété *Ghars*.

Mois Palmiers	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
P1	62,17 ± 0,07	65,58 ± 0,08	71,56 ± 0,05	83,16 ± 0,07	89,96 ± 0,09	91,82 ± 0,07	93,12 ± 0,06
P2	63,36 ± 0,09	66,05 ± 0,09	71,87 ± 0,06	84,32 ± 0,06	90,20 ± 0,06	92,16 ± 0,07	93,56 ± 0,05
P3	63,62 ± 0,07	66,36 ± 0,05	72,12 ± 0,09	84,70 ± 0,07	90,56 ± 0,08	92,56 ± 0,06	93,86 ± 0,05
P4	63,96 ± 0,05	66,75 ± 0,07	72,49 ± 0,08	85,09 ± 0,06	90,96 ± 0,07	92,94 ± 0,05	94,02 ± 0,04
P5	63,75 ± 0,11	67,12 ± 0,07	72,87 ± 0,08	85,57 ± 0,07	90,77 ± 0,07	92,65 ± 0,06	94,27 ± 0,04
P6	61,87 ± 0,07	65,18 ± 0,08	70,41 ± 0,08	82,91 ± 0,08	89,63 ± 0,07	91,97 ± 0,08	92,95 ± 0,06
P7	63,36 ± 0,04	66,19 ± 0,05	71,22 ± 0,09	83,13 ± 0,06	90,23 ± 0,05	93,12 ± 0,05	94,04 ± 0,07
P8	63,81 ± 0,08	66,62 ± 0,07	71,68 ± 0,05	83,82 ± 0,08	91,08 ± 0,05	92,66 ± 0,05	93,84 ± 0,05
P9	61,98 ± 0,08	65,47 ± 0,14	70,68 ± 0,08	82,92 ± 0,06	89,39 ± 0,05	91,91 ± 0,07	93,08 ± 0,05
P10	61,38 ± 0,06	65,15 ± 0,10	70,21 ± 0,12	82,56 ± 0,06	89,12 ± 0,06	91,70 ± 0,08	92,92 ± 0,07

La figure 19 représente l'évolution de la teneur en MS au cours de différents stades de maturité. La teneur en MS varie entre  $61,38 \pm 0,06$  à  $63,96 \pm 0,05\%$  au premier stade (Hababouk ou Loulou) et  $92,92 \pm 0,07$  à  $94,27 \pm 0,04\%$  au dernier stade (Tmar) (tableau XI). Il est à noter qu'il y a une augmentation importante en MS pendant la maturation. Des travaux similaires ont été menés sur l'évolution de la teneur en eau durant le mûrissement. La teneur en eau est inversement proportionnelle avec la teneur en MS. SAWAYA et al. (1983b) ont suivi, durant deux stades de maturité (Khalal ou Bser et Tmar), la teneur en eau de 25 cultivars de différentes consistances en Arabie saoudite. Ils ont montré que la teneur en eau durant le premier stade étudié (Khalal ou Bser) varie de 57,2 à 78,1% alors qu'elle varie de 7,8 à 37,5% au deuxième stade étudié (Tmar). La teneur en eau diminue au fur et à mesure que les dattes deviennent mûres, et atteint la valeur la plus basse au cours du dernier stade de maturité (Tmar) et en conséquence la teneur en MS augmente. Ces résultats ont été confirmés par AL-OGAIDI et MUTLAK (1986). AHMED et al. (1995) ont étudié les changements de la composition chimique sous l'influence de stade de maturation de 16 variétés de dattes cultivées en U.A.E. Le déclin de la teneur en eau pendant la maturation est observé chez toutes les variétés étudiées.



**Figure 19 :** Evolution de la teneur en matière sèche au cours de la maturation de dattes de la variété *Ghars*.

Des variations des teneurs en MS entre les stades étudiés et les individus choisis (palmiers dattiers) sont notées. L'analyse de la variance à deux facteurs de classification a été effectuée afin de confirmer cette observation. Il existe une différence significative dans

se trouvent à l'extrémité de la palmeraie, alors que les palmiers 6, 9 et 10 se trouvent au milieu. Les palmiers de l'extrémité sont plus exposés à la température associée à l'ensoleillement, ce qui a une influence sur la photosynthèse et ce qui augmente la concentration des sucres solubles, donc leur teneur en MS. Cependant, les palmiers qui sont au milieu de palmeraie, sont entourés par les autres palmiers qui créent un microclimat différent de celui de l'extérieur, ce qui rend ces palmiers moins exposés à la lumière, à la température et par conséquent produisent des dattes de plus faible teneur en MS.

D'autres facteurs pourraient avoir également une influence sur la teneur en matière sèche au cours de la maturation des dattes, il serait intéressant de mener des études plus approfondies sur la question.

### **2.3.- Extraction**

#### **2.3.1.- Optimisation de l'extraction**

Les principaux facteurs qui contribuent à l'efficacité de l'extraction des polyphénols sont : le type de solvant, la température, le volume du solvant, le temps d'extraction, les dimensions des particules de l'échantillon, le pH et le nombre d'extraction effectué (NAZCK et SHAHIDI, 2004 ; TABART *et al.*, 2007). Ainsi ont été étudiés le pouvoir extracteur de deux solvants, le rapport solvant/eau, la concentration de l'échantillon dans le solvant ou le rapport du solide/liquide, la température et le temps de macération de l'échantillon dans le solvant.

##### **2.3.1.1.- Rapport solvant/eau**

Pour extraire les polyphénols de dattes lyophilisées (Kh'lal I ou Kimri I), deux solvants sont utilisés ; le méthanol et l'éthanol avec différents rapports avec l'eau (0 /100, 20 /80, 40 /60, 60 / 40, 80 /20, 100 /0 ; v/v). Le tableau XII donne les résultats des teneurs en PPt et Ft en fonction des solvants et des rapports solvant/eau utilisés pour l'extraction.

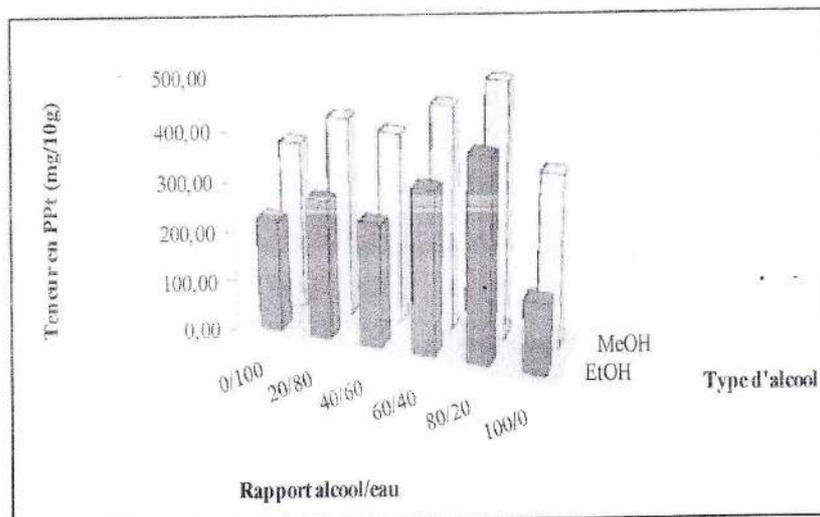


Figure 20 : Influence de type d'alcool et de différents rapports alcool/eau sur la teneur en PPT de dattes (variété Ghars) au stade Kimri I.

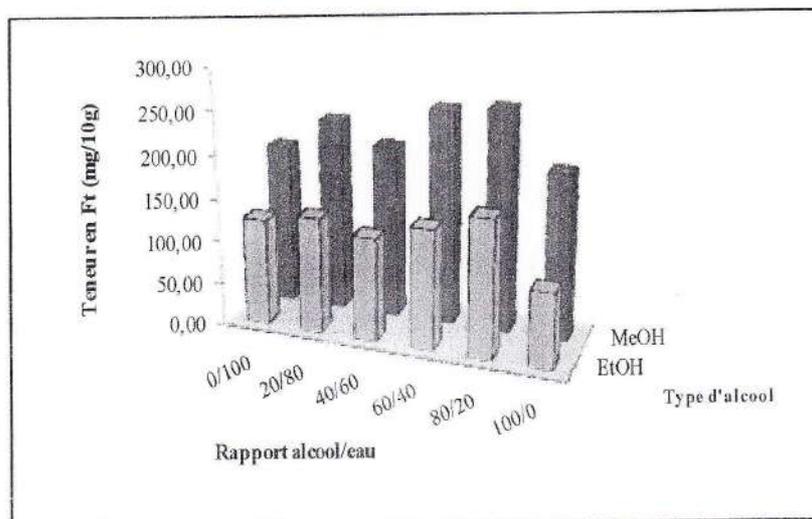


Figure 21 : Influence de type d'alcool et de différents rapports alcool/eau sur la teneur en Ft de dattes (variété Ghars) au stade Kimri I.

Afin de montrer l'influence du type de solvant et son rapport avec l'eau sur les grandeurs mesurées, une analyse de variance à deux critères de variation est faite, où le premier facteur est le rapport solvant/eau, alors que le deuxième facteur est le type de solvant. A partir des résultats de l'analyse de variance (annexe 3 et 4), il ressort que les facteurs étudiés et leur interaction ont une influence significative sur les taux des PPt et des Ft.

Les combinaisons de solvants tels que le méthanol, l'éthanol et l'acétone avec l'eau ont été utilisées pour l'extraction des polyphénols par plusieurs auteurs (CHIRINOS *et al.*, 2007 ; KIM *et al.*, 2007 ; SPIGNO *et al.*, 2007 ; TABART *et al.*, 2007). Selon ces auteurs, l'utilisation de solvants combinés avec l'eau (systèmes modérément polaires), fait améliorer l'extraction des composés phénoliques glycosylés. Le système constitué de méthanol et d'eau a été considéré comme le meilleur système pour l'extraction des flavonoïdes et les acides-phénols glycosylés. L'augmentation de pourcentage de l'eau semble être inefficace ; en effet, quand le rapport d'eau dépasse 50% celui-ci n'assure pas l'obtention de grandes teneurs en PP. Donc, l'eau qui est très polaire et le solvant organique seuls sont moins efficaces (SPIGNO *et al.*, 2007). En plus, un rapport de 70% de méthanol au minimum est nécessaire pour inactiver les polyphénols-oxydases, des enzymes intervenant dans l'oxydation des polyphénols (phénomène de brunissement) (CHIRINOS *et al.*, 2007). Ce rapport est utilisé généralement dans l'extraction des flavonoïdes (catéchines ou épi-catéchines), les acides-phénols et leurs dérivés et plusieurs d'autres sous groupes des flavonoïdes (AL-FARSI et LEE, 2007 ; TABART *et al.*, 2007).

#### 2.3.1.2.- Rapport solide /liquide

Au cours du présent travail, le rapport 1 /3 (solide /liquide) est trouvé insuffisant pour extraire les polyphénols, et que presque la totalité de solvant utilisé est absorbé par le matériel végétal, ce qui conduit à l'obtention de petites quantités d'extrait. Pour résoudre cette situation, l'effet du rapport solide/liquide sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes est étudié pour optimiser la quantité d'échantillon et le volume optimal du solvant d'extraction. Le tableau XIII donne les résultats des teneurs en PPt et Ft extraits de 10g de dattes en faisant varier le volume d'extraction selon le rapport solide/liquide.

**Tableau XIII :** Teneur en PPt et en Ft en fonction de rapport solide /liquide pour les deux alcools (méthanol et éthanol) de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

Solvants Paramètres	Méthanol		Ethanol	
	PPt (mg)	Ft (mg)	PPt (mg)	Ft (mg)
<i>Rapport S/L</i>				
1/3	236,43 ± 5,63	128,18 ± 9,03	138,20 ± 6,28	64,09 ± 4,37
1/4	406,25 ± 4,75	223,87 ± 6,46	279,75 ± 6,50	127,57 ± 7,24
1/5	654,53 ± 7,77	310,93 ± 9,32	418,11 ± 10,12	205,36 ± 5,88
1/6	935,96 ± 7,86	439,32 ± 15,21	582,01 ± 10,52	309,63 ± 12,32
1/7	740,75 ± 11,82	337,00 ± 16,86	678,98 ± 5,14	337,00 ± 16,86

L'impact de ce rapport sur l'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées est mesuré avec les rapports 1/3, 1/4, 1/5, 1/6, 1/7 ; P/ V pendant 5 h à 23°C avec 50% d'alcool aqueux (méthanol et éthanol). En augmentant le rapport solide/liquide, celui-ci a un effet positif sur l'extraction ; en effet le rapport solide/liquide de 1/6 est celui qui permet d'extraire le meilleur taux quelque soit le solvant étudié. Au-delà de ce rapport, les taux diminuent.

Les résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (facteur 1 : le rapport solide/liquide, facteur 2 : type de solvant) sont portés dans l'annexe 3 et 4. D'après ces résultats, il ressort que les deux facteurs ainsi que leur interaction ont des effets significatifs sur les teneurs en PPt et en Ft.

Ces résultats sont compatibles avec le principe du transfert de la matière, où la force de transmission durant ce transfert est le gradient de la concentration de soluté entre le solide et le liquide. Cette force devient importante lorsque le rapport solide/liquide utilisé est plus élevé (AL-FARSI et LEE, 2007 ; GABORIAUD, 1996). Des résultats similaires sur l'effet du rapport solide/liquide sur l'extraction des polyphénols ont été rapportés pour les noyaux de dattes par AL-FARSI et LEE (2007), pour l'écorce de la pomme par JEREZ et al. (2006) et pour les feuilles d'*Inga edulis* par SILVA et al. (2007).

**Tableau XVII :** Teneur en flavonoïdes de chaque fraction durant chaque stade de maturité.

Mois \ Solvant	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
BOH	404,38 ± 21,67	251,67 ± 17,33	179,01 ± 18,99	89,59 ± 12,54	28,51 ± 5,12	7,57 ± 1,35	0,76 ± 0,11
AcEtO	122,80 ± 8,21	101,37 ± 6,54	55,13 ± 6,07	27,50 ± 3,95	13,40 ± 2,54	2,33 ± 0,34	0,23 ± 0,03
H2O	80,58 ± 21,35	57,83 ± 4,18	35,97 ± 4,47	11,97 ± 1,18	6,69 ± 1,19	1,99 ± 0,34	0,19 ± 0,02

Au vu des résultats, nous constatons que la majorité des flavonoïdes est détectée dans la fraction extraite par le butanol-1. Ceci est confirmé par l'analyse de variance à deux facteurs (facteur 1 : le stade ; facteur 2 : le type de solvant) (annexe 5). Les résultats obtenus ont montré que le butanol-1 est le meilleur solvant pour l'extraction des flavonoïdes au cours de différents stades de la maturation.

Les deux solvants utilisés dans l'extraction liquide-liquide ont des polarités différentes, donc font extraire les flavonoïdes différente selon leur polarité. Ceci permet en plus d'avoir une idée sur la polarité des flavonoïdes de dattes, révèle également que ces flavonoïdes sont glycosylés. WILLIAMS et al. (1971) ont prouvé l'existence des flavonols et des flavones glycosylés dans les feuilles de certains genres de la famille de *Palmae*. Chez le palmier dattier, il y a le lutéoline-7glucoside, le lutéoline, le 7-rutinoside et le glycosyl-apigénine (WILLIAMS *et al.*, 1971). En plus, MANSOURI et al. (2005), dans leur étude sur le profil phénolique de dattes de sept variétés algériennes, ont identifié trois sous classes des flavonoïdes qui sont les flavones, les flavanones et les flavonols glycosylés.

## 2.4.- Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins

### 2.4.1.- Dosage des polyphénols totaux

Les changements de la teneur en PPT pendant les différents stades de maturité sont présentés dans la figure 28.

Les extraits bruts de dix palmiers dattiers choisis dans cette étude ont révélé la concentration en PPT la plus élevée au cours de premier stade de la maturation (Hababouk ou Loulou) et qui varie de  $1352,16 \pm 22,75$  à  $1536,91 \pm 17,86$  mg en acide gallique équivalent (AGE)/10 g de poids sec. Après ce stade, la teneur en PPT de dattes diminue progressivement en fonction de la maturation des fruits, pour atteindre les valeurs les plus faibles au cours de dernier stade (Tmar) qui sont comprises entre  $3,17 \pm 0,33$  et  $4,55 \pm 0,39$  mg AGE/10 g de poids sec (tableau XVIII).

Tableau XVIII : Teneur en PPt au cours de différents stades de maturité de dattes de la variété *Ghars*.

Mois	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
<b>Palmier</b>							
P1	1440,62 ± 13,23	841,50 ± 14,16	633,46 ± 12,86	348,18 ± 14,36	140,50 ± 6,42	25,86 ± 1,73	4,53 ± 0,40
P2	1453,91 ± 17,74	902,53 ± 15,20	638,60 ± 13,56	357,45 ± 9,72	140,57 ± 9,01	25,33 ± 2,07	4,49 ± 0,45
P3	1536,91 ± 17,86	1011,24 ± 12,58	716,73 ± 14,34	411,08 ± 14,68	144,48 ± 11,14	26,26 ± 2,03	4,55 ± 0,39
P4	1480,66 ± 18,74	932,44 ± 13,21	670,16 ± 13,44	395,46 ± 12,22	142,51 ± 10,32	25,71 ± 2,35	4,48 ± 0,41
P5	1500,67 ± 21,94	998,91 ± 14,18	682,11 ± 16,56	386,67 ± 116,08	145,71 ± 9,98	25,85 ± 1,57	4,53 ± 0,36
P6	1404,92 ± 19,22	805,13 ± 10,34	535,78 ± 14,04	303,78 ± 13,98	130,15 ± 6,77	22,52 ± 1,60	3,76 ± 0,26
P7	1442,89 ± 21,39	914,08 ± 16,77	640,29 ± 12,35	360,58 ± 15,33	141,41 ± 9,51	25,39 ± 1,96	4,45 ± 0,41
P8	1499,55 ± 28,02	963,62 ± 14,65	685,77 ± 11,17	369,31 ± 16,24	141,67 ± 6,28	25,47 ± 1,99	4,54 ± 0,37
P9	1373,57 ± 14,67	774,94 ± 10,94	534,35 ± 15,09	304,09 ± 13,54	131,87 ± 7,29	22,02 ± 1,79	3,36 ± 0,23
P10	1352,16 ± 22,75	756,40 ± 14,56	500,41 ± 18,85	295,85 ± 12,95	119,54 ± 5,59	21,48 ± 1,54	3,17 ± 0,33

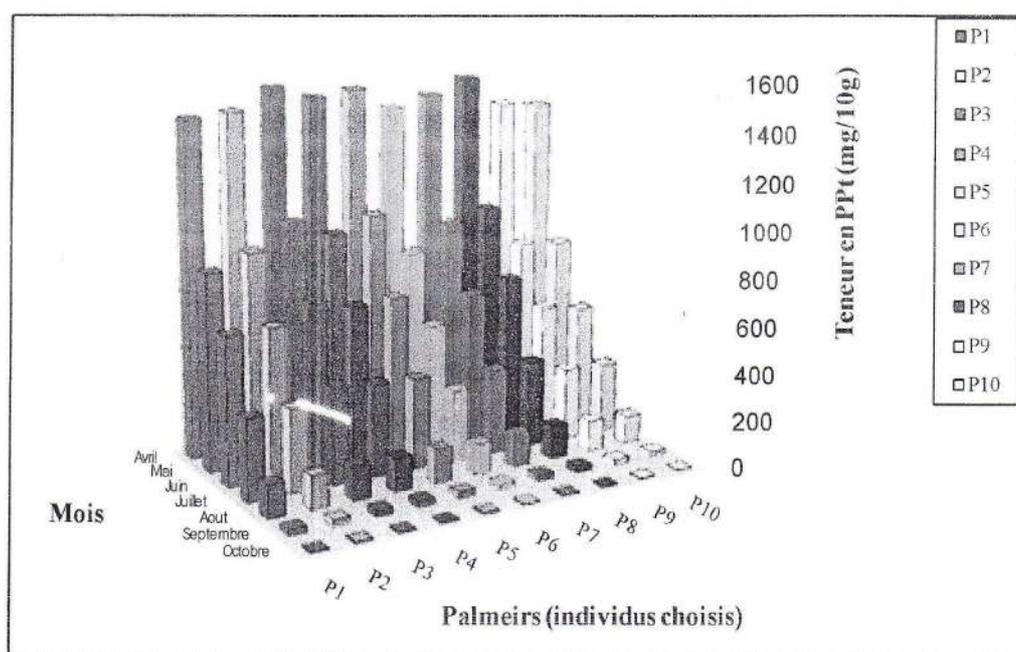


Figure 28 : Evolution de la teneur en PPt en fonction de stade de maturité et du palmier dattier de la variété *Ghars*.

Ces résultats sont en accord avec AL-OGAIDI et MUTLAK (1986), qui ont montré que le taux des PPt de quatre variétés de dattes cultivées en Iraq (Zahdi, Sayer, Khistawi et Shukkar) diminue graduellement pendant la maturation. NAVARRO et al. (2006) ont étudié l'évolution de la composition chimique du poivre durant trois stades de maturité

sous l'influence de la salinité. Ils ont trouvé que la teneur en substances phénoliques varie avec le stade de maturité. En passant du fruit vert au fruit mûr, la teneur en PPt diminue. La teneur en PPt des fruits change de manière importante au cours de la maturation. CASTREJÓN et al. (2008) ont aussi étudié l'évolution de la teneur en PPt à trois stades de maturité de trois variétés de myrtille. Leurs résultats indiquent une variation de concentration des PPt lors de la maturité de myrtille. Néanmoins, BACCOURI et al. (2008), ont suivi l'évolution de la teneur en PPt pendant la maturation de deux variétés d'olive cultivées en Tunisie ; ils ont montré que le taux des PPt augmente progressivement jusqu'aux stades " rougeâtre " et " noir " de pigmentation, puis la teneur diminue.

L'analyse de variance à deux facteurs effectuée sur les résultats (tableau XIX) montre qu'il y a des différences significatives dans les teneurs en PPt selon les stades et selon les individus. L'amplitude de variation en fonction du stade de maturité et de palmier dattier (individu) est particulièrement importante.

**Tableau XIX :** Analyse de la variance à deux facteurs de l'évolution de la teneur en PPt.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Stade de maturité	6	101.529.200,00	16.921.534,00	109.193,64***
Palmier dattier	9	567.056,00	63.006,22	406,58***
Interaction	54	460.296,00	8.524,00	55,00***
Variation résiduelle	345	53.464,00	154,97	
Totaux	414	102.610.016		

\*\*\* Très hautement significative à  $\alpha < 0.001$ .

L'influence de stade de maturité se traduit par la diminution progressive de la teneur en PPt. Ce phénomène est expliqué par la synthèse active des polyphénols qui a lieu après la pollinisation durant la phase de division cellulaire, puis elle diminue à partir de la phase de croissance cellulaire (TRAVERS, 2002). Alors que, la diminution de la teneur en PPt pendant la maturation peut être due à l'action des polyphénols-oxydases PPO et les peroxydases POD. Plusieurs études ont reporté qu'il y a une corrélation entre l'évolution de taux des PPt et l'activité enzymatique des PPO durant la maturation. GOODING et al. (2001) ont montré que l'activité enzymatique des PPO dans les fruits du bananier *Goldfinger* diminue en fonction de stade de maturité. En plus, AYAZ et al. (2008) ont montré qu'il y a une diminution de la teneur en PPt ainsi que l'activité enzymatique des PPO au cours de trois stades de maturité des nèfles.

Concernant l'influence de palmier dattier en tant qu'individu la différence peut être due à l'effet métaxénique des pollens. Les facteurs environnementaux peuvent favoriser la synthèse des polyphénols. Les palmiers qui sont moins exposés au soleil présentent des

teneurs faibles en comparaison avec les premiers. En plus, le stress peut être à l'origine de l'accumulation des composés phénoliques comme le stress thermique, lumineux ou hydrique (HOFFMANN, 2003 ; BERNILLON, 2005 ; BACCOURI *et al.*, 2008).

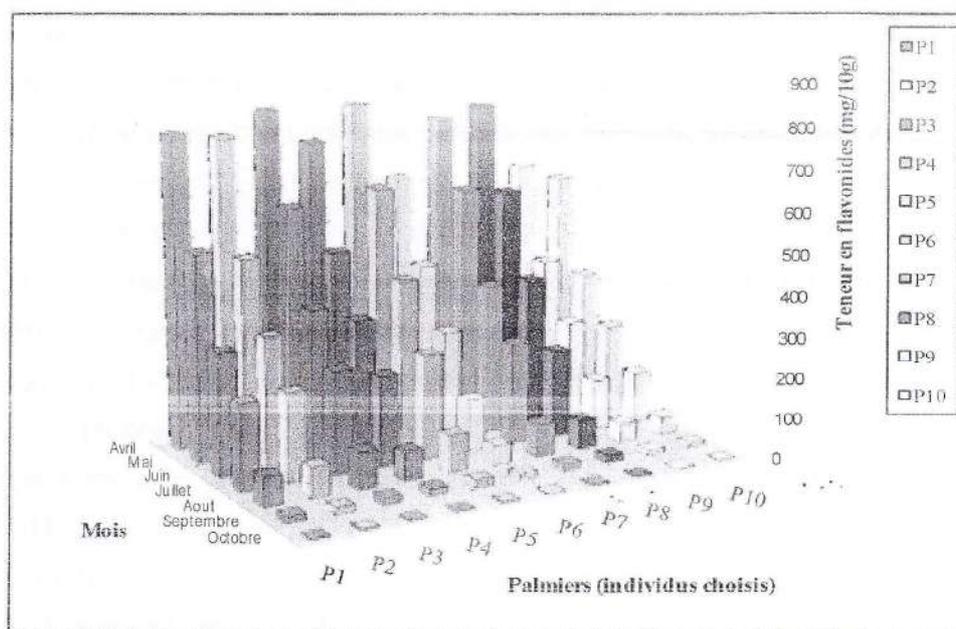
#### 2.4.2.- Dosage des flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus sur la teneur en flavonoïdes (Ft) totaux de dattes au cours de la croissance sont donnés par le tableau XX. La concentration est mesurée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium.

Tableau XX : Teneur en Ft pendant les différents stades de maturation de dattes de la variété *Ghars*.

Mois Palmier	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
P1	769,05 ± 33,83	510,50 ± 58,23	304,01 ± 21,71	212,57 ± 16,10	72,18 ± 10,81	16,48 ± 2,79	1,62 ± 0,28
P2	752,42 ± 29,46	484,24 ± 29,22	325,39 ± 23,27	218,92 ± 20,79	75,99 ± 14,76	16,20 ± 3,76	1,60 ± 0,37
P3	807,04 ± 35,89	593,05 ± 26,54	372,99 ± 22,63	253,44 ± 16,82	90,30 ± 9,48	17,75 ± 2,69	1,63 ± 0,30
P4	720,03 ± 34,73	471,30 ± 34,98	331,59 ± 21,70	223,99 ± 27,38	73,60 ± 9,25	18,00 ± 2,25	1,69 ± 0,31
P5	803,19 ± 27,97	614,51 ± 39,54	413,95 ± 29,30	260,70 ± 19,46	93,19 ± 13,81	19,04 ± 2,00	1,89 ± 0,33
P6	607,49 ± 41,51	410,62 ± 28,75	270,14 ± 29,45	129,64 ± 17,75	48,75 ± 8,90	11,88 ± 2,16	1,18 ± 0,17
P7	746,40 ± 25,70	588,51 ± 51,54	368,55 ± 38,47	253,13 ± 20,70	80,41 ± 10,71	17,11 ± 3,15	1,68 ± 0,23
P8	768,73 ± 22,40	570,03 ± 52,27	370,75 ± 33,35	218,80 ± 24,38	74,06 ± 9,88	18,17 ± 2,44	1,76 ± 0,20
P9	604,32 ± 34,35	379,05 ± 25,15	247,90 ± 27,00	126,17 ± 21,52	46,19 ± 10,68	11,56 ± 1,74	1,15 ± 0,14
P10	561,34 ± 43,87	328,93 ± 34,16	221,72 ± 25,39	126,71 ± 24,81	43,18 ± 9,35	10,93 ± 1,69	1,08 ± 0,14

Les résultats obtenus montrent que la teneur en Ft de dattes suit le même sens d'évolution que celui des PPt et varie de 561,34 ± 43,87 à 807,04 ± 85,89 mg équivalents en Rutine (ER)/10 g de poids sec au stade Hababouk ou Loulou, et de 1,08 ± 0,14 à 1,89 ± 0,33 mg ER/10 g de poids sec d'échantillon au stade Tmar (Fig. 29).



**Figure 29 :** Evolution de la teneur en Ft en fonction de stade de maturité et selon le palmier dattier considéré de la variété *Ghars*.

Nous constatons que les teneurs en Ft diminuent durant la maturation. Ces variations notées ont été confirmées par l'analyse de variance à deux critères (tableau XXI). Les résultats obtenus montrent qu'il existe une différence significative entre le stade de maturité et la teneur en Ft, celle-ci se traduit par des diminutions progressives des teneurs en Ft au cours de la maturité. Les teneurs en Ft des dix palmiers dattiers étudiés sont significativement différentes. On remarque aussi que l'interaction entre ces facteurs a une influence importante sur la teneur en Ft.

**Tableau XXI :** Analyse de la variance à deux facteurs de l'évolution de la teneur en Ft.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Stade de maturité	6	25.931.880,00	4321980,00	7502,61***
Palmier dattier	9	779.724,00	86636,00	150,39***
Interaction	54	559.194,00	10355,44	17,98***
Variation résiduelle	345	198.742,00	576,06	
Totaux	414	27.469.540		

\*\*\* Très hautement significative à  $\alpha < 0,001$ .

La diminution de la teneur en Ft au cours du mûrissement des dattes semble être due à l'action des enzymes. Lors de la maturation, sous l'effet des conditions environnementales et en fonction des changements physiques et physico-chimiques des fruits, certaines enzymes peuvent être inhibées ou activées selon le type d'enzyme et les conditions optimales de leur activité. En effet, CASTREJÓN et al. (2008), ont étudié

## 2.5.- Chromatographie sur couche mince

Au cours de ce travail, nous avons utilisé plusieurs phases mobiles afin d'optimiser la séparation des différents constituants de nos extraits. Une seule phase a permis de donner quelques résultats, elle est constituée d'acétate d'éthyle/acide formique/eau avec le rapport de 6,5/1,5/2 (v/v/v).

Les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de fleurs et de dattes au cours de différents stades de maturité sont reportés dans les tableaux XXIII et XXIV selon les Rf (facteur de rétention) des substances et leur coloration (Annexe 11). La plupart des tâches sont visibles au réactif de  $AlCl_3$  + en UV.

Tableau XXIII : Résultats des spots obtenus en CCM pour la fraction d'acétate d'éthyle.

Extrait	$AlCl_3$ +UV	Rf	Extrait	$AlCl_3$ +UV	Rf	Extrait	$AlCl_3$ +UV	Rf
Fleur male	Jaune	0,21	Fleur femelle	Jaune	0,21	Loulou ou Hababouk	Jaune	0,21
	Jaune	0,35		Jaune	0,35		Jaune	0,40
	Jaune	0,40		Jaune	0,40		Jaune	0,44
	Jaune	0,56		Orange	0,62		Orange	0,63
	Orange	0,63		Violet	0,78		Orange	0,68
	Orange	0,68		Violet	0,83		Violet	0,87
	Violet	0,87		Vert clair	0,94		Gris	0,91
Vert clair	0,97	Orange	0,97	Vert clair	0,94			
			Rouge	0,98	Orange	0,97	Rouge	0,98
Kh'lal I ou Kimri I	Jaune	0,17	Kh'lal II ou Kimri II	Jaune	0,17	Bser ou Khalal	Jaune	0,17
	Jaune	0,35		Jaune	0,35		Jaune	0,35
	Jaune	0,43		Jaune	0,43		Jaune	0,43
	Violet	0,52		Violet	0,52		Violet	0,52
	Jaune	0,62		Jaune	0,62		Jaune	0,62
	Jaune	0,68		Jaune	0,68		Jaune	0,68
	Vert clair	0,81		Vert clair	0,83		Vert clair	0,83
	Orange	0,91		Orange	0,91		Orange	0,91
Rouge	0,95	Rouge	0,95	Rouge	0,95			
Mertouba ou Rutab	Vert clair	0,28	Tmar S	Vert clair	0,28	Tmar O	Vert clair	0,28
	Orange	0,40		Orange	0,40		Orange	0,40
	Orange	0,45		Orange	0,45		Orange	0,45
	Vert clair	0,56		Jaune	0,56		Jaune	0,68
	Jaune	0,68		Jaune	0,68		Jaune	0,77
	Jaune	0,77		Jaune	0,77		Vert clair	0,90
	Vert clair	0,90		Vert clair	0,90		Bleu	0,95
violet	0,95	Bleu	0,95					

Concernant le rapport 1/7 qui est marqué par la diminution des teneurs en PPt et en Ft, nous pouvons dire que ce résultat peut être du à l'intervention d'un autre paramètre n'étant pas pris en considération dans cette étude, ou peut être du à l'augmentation de l'eau dans le système de solvant d'extraction, qui fait extraire en quantité importante les composés non phénoliques comme les glucides, les protéines... susceptibles de polymériser avec les composés phénoliques ce qui conduit à la formation des complexes qui ne sont pas détectés par le test utilisé.

Ce rapport 1/6 est maintenu dans les étapes suivantes de cette étude.

### 2.3.1.3.- Température

L'impact de la température sur les taux des PPt et des Ft est évalué dans la gamme de 6°C à 46°C. L'influence de la température sur l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques de dattes lyophilisées est présentée par les figures 24 et 25. Les solvants utilisés, 50% de méthanol et 50% d'éthanol, ont présenté la même tendance en fonction de la variation de la température, mais les concentrations des PPt et des Ft obtenues avec le méthanol (tableau XIV) sont plus élevées par rapport à celles obtenues avec l'éthanol. Les plus hautes concentrations sont obtenues lorsque la température est égale à 23°C quelque soit le solvant utilisé.

**Tableau XIV :** Teneur en PPt et en Ft en fonction de la température pour les deux alcools (méthanol et éthanol) de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

Solvants Paramètres	Méthanol		Ethanol	
	PPt	Ft	PPt	Ft
<i>La température</i>				
6 °C	89,85 ± 4,21	44,23 ± 4,35	62,94 ± 4,76	30,69 ± 4,14
23°C	441,98 ± 5,12	217,85 ± 3,83	264,09 ± 4,96	148,97 ± 2,75
46°C	296,02 ± 8,24	154,81 ± 6,05	133,15 ± 3,43	79,43 ± 2,10

Pour déterminer la température optimale d'extraction et le meilleur solvant, l'analyse de variance à deux critères de classification est effectuée, et les résultats sont résumés dans le l'annexe 3 et 4. Cette analyse met en évidence l'effet significatif de la variation de la température, du type de solvant et leur interaction, ce qui signifie que les rendements en PPt et en Ft varient en fonction des températures choisies, du type de solvant utilisé ainsi que par l'interaction de ces deux facteurs.

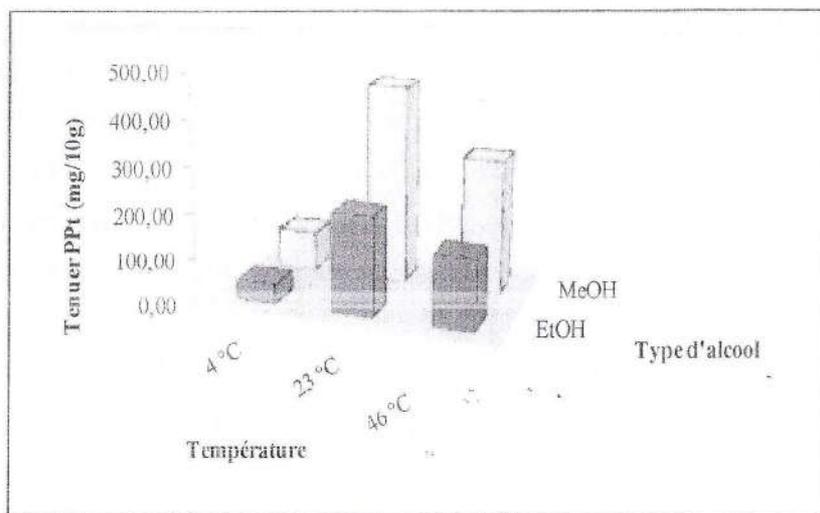


Figure 24 : Influence de type d'alcool et de la température sur la teneur en Ppt de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

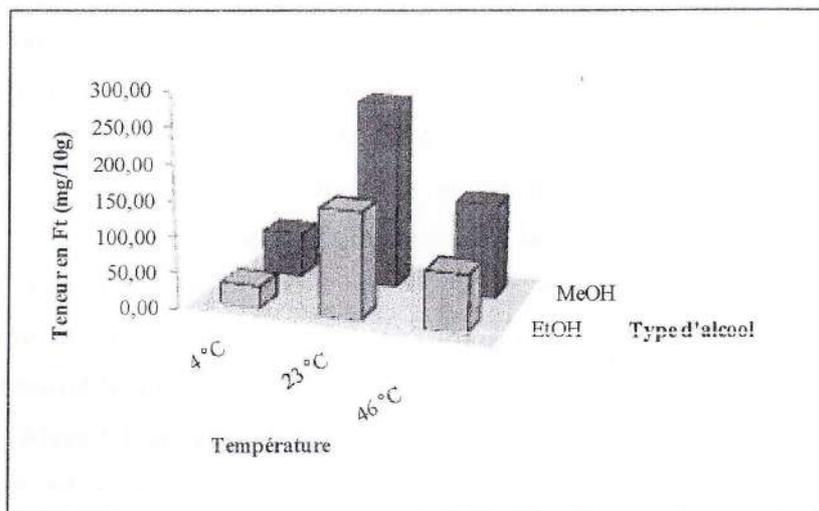


Figure 25 : Influence de type d'alcool et de la température sur la teneur en Ft de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

Les résultats obtenus ne sont pas corroborés avec les résultats obtenus par AL-FARSI et al. (2007), JEREZ et al. (2006) et SILVA et al. (2007) qui ont montré que les températures optimales sont respectivement de 45°C, 50°C et 62,5°C. Ils ont aussi prouvé que l'élévation de la température fait faciliter l'extraction des polyphénols par l'intensification de la solubilité de solutés et le coefficient de diffusion. Ainsi, le chauffage peut ramollir les tissus végétaux et affaiblir les interactions entre les composés phénoliques et les macromolécules (protéines, polysaccharides) (AL-FARSI et LEE, 2007).

Cependant, dans notre cas, les rendements en PPt et en Ft extraits de dattes lyophilisées ont diminués lorsque la température atteint la valeur de 46°C. Cette diminution peut être due à l'oxydation non enzymatique (auto-oxydation et oxydation chimique) des composés phénoliques, la durée d'extraction apparemment longue (5 heures) en comparaison avec les durées d'extraction utilisées par plusieurs auteurs : une heure (AL-FARSI et LEE, 2007), une heure et demi (JEREZ *et al.*, 2006) et une heure (SILVA *et al.*, 2007). L'oxydation enzymatique peut avoir lieu, puisque le rapport 50% d'alcool/eau semble incapable de faire désactiver la totalité de l'enzyme (à cause de la couleur de l'extrait qui est brune). En plus, les dattes sont riches en PPO à ce stade de maturité (Kh'lal I ou Kimri I). SARNI-MANCHADO et CHEYNIER (2006) ont mentionné que les réactions de brunissement sont particulièrement élevées dans les organes végétaux jeunes. Pour les fruits, elles sont maximales quelques semaines après la nouaison puis elles diminuent rapidement au cours de la croissance et de la maturation (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006). En outre, AYAZ et al. (2008), dans leur étude effectuée sur la caractérisation de polyphénols-oxydase de Nèfle (*Mespilus germanica* L.) pendant la maturation, ont montré que la température optimale d'activité de PPO est de 30°C au stade immature (193 jours après floraison) et que l'activité enzymatique ne commence à diminuer que lorsque la température dépasse 60°C.

Concernant la troisième température étudiée, nous avons rencontré un autre type de problème. Après 5 h de macération dans le réfrigérateur, le mélange (matériel végétal et système de solvants) est devenu un gel, ce qui rend la filtration très difficile et par conséquent le rendement d'extraction est faible. Nous supposons que ce phénomène peut être du soit à la présence de protéines ou de polysaccharides soit par les deux en même temps. Ce gel fait donc emprisonner les petites molécules, parmi elles les polyphénols.

Nous avons donc opté pour le choix de la température optimale de 23°C pour l'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées au cours de ce travail.

## 2.3.1.4.- Temps

L'effet de la durée d'extraction a été étudié en utilisant les mêmes solvants avec une proportion de 50%, à 23°C et un rapport solide/liquide de 1 /3.

**Tableau XV :** Teneur en PPt et en Ft en fonction du temps pour les deux alcools (méthanol et éthanol) de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

Solvants Paramètres	Méthanol		Ethanol	
	PPt	Ft	PPt	Ft
<i>Le temps</i>				
30 min	227,60 ± 3,46	138,41 ± 3,70	121,32 ± 6,50	60,02 ± 4,16
1 h	304,23 ± 4,69	157,06 ± 7,80	164,20 ± 5,94	74,92 ± 1,55
3 h	431,04 ± 6,15	218,45 ± 12,64	276,40 ± 8,43	96,13 ± 2,71
5 h	466,16 ± 6,35	222,06 ± 5,50	317,46 ± 8,45	125,02 ± 4,30
7 h	484,40 ± 4,29	222,06 ± 6,42	382,20 ± 8,95	143,08 ± 3,19
9 h	475,73 ± 5,34	216,64 ± 8,36	394,54 ± 4,15	152,55 ± 3,35

Le contenu en PPt et en Ft a été augmenté considérablement quand le temps d'extraction a été augmenté de 30 min à 5 h et de 5 h à 9 h (fig. 26 et 27). Nous constatons que l'évolution de la teneur en PPt et en Ft est rapide entre 30 min et 5 h, alors qu'elle est lente entre 5 h à 9 h. La prolongation du temps d'extraction des PPt et des Ft par chaque solvant examiné, fait donc accroître leur rendement. Des résultats similaires ont été obtenus par plusieurs auteurs (CHIRINOS *et al.*, 2007 ; DRUŽŇSKA *et al.*, 2007 ; SILVA *et al.*, 2007).

Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention de la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses) (NAZCK et SHAHIDI, 2004 ; NAZCK et SHAHIDI, 2006 ; CHIRINOS *et al.*, 2007 ; DRUŽŇSKA *et al.*, 2007).

D'après les résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (facteur 1 : le temps d'extraction, facteur 2 : le type de solvant), l'influence du temps d'extraction et le type de solvant est très importante (annexe 3 et 4). En plus, l'interaction entre le temps d'extraction et le type de solvant a été prouvée, qui veut dire que la prolongation du temps d'extraction accroît d'une manière significative le pouvoir d'extraction de chaque solvant étudié.

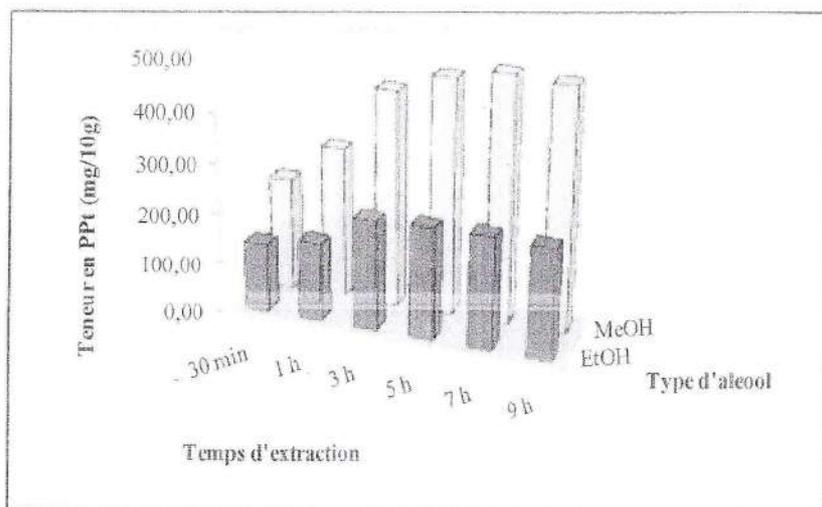


Figure 26 : Influence de type d'alcool et du temps d'extraction sur la teneur PPT de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

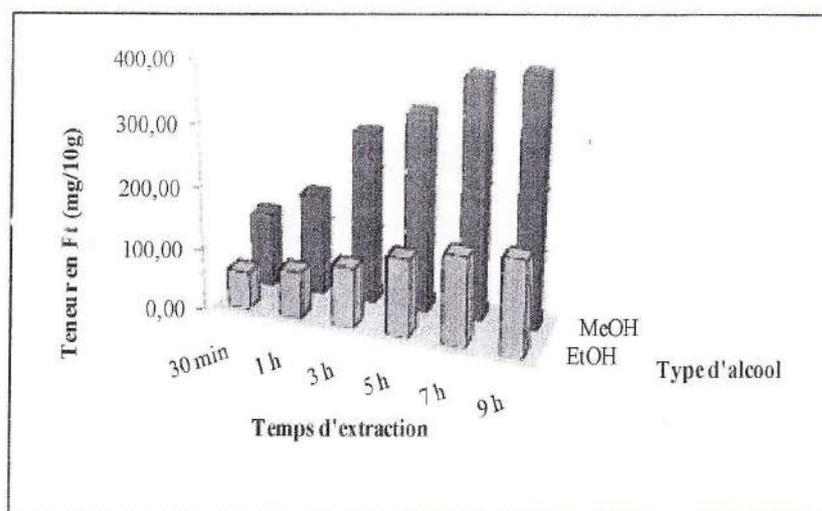


Figure 27 : Influence de type d'alcool et de la température sur la teneur en Ft de dattes (variété *Ghars*) au stade Kimri I.

### 2.3.2.- Extraction des polyphénols

Dans le présent travail, l'extraction des polyphénols de dattes au cours de différents stades phénologiques est effectuée par la macération de la poudre solide de dattes lyophilisées dans le méthanol aqueux (80/20 : v/v) ce qui fait passer les composés phénoliques dans la phase liquide. Dans le cas de dattes de dernier stade (Tmar), les échantillons de septembre ainsi que d'octobre ont été broyés dans un mortier, à cause de l'aspect élastique de dattes à ce stade après la lyophilisation. Les résultats d'extraction sont donnés dans le tableau XVI. Les extraits obtenus ont des aspects et des couleurs différentes.

**Tableau XVI :** Extraits préparés au cours de différents stades de maturité (à partir d'une prise d'essai de 10g).

Stade	Poids de l'extrait (g)	Rendement (%)	Couleur
Hababouk ou Loulou	1,48	14,83	Vert
Kimri I ou Kh'lal I	1,25	12,52	Vert noirâtre
Kimri II ou Kh'lal II	1,23	12,39	Vert foncé
Khalal ou Bser	1,02	10,23	Jaune verdâtre
Rutab ou Mertouba	0,81	8,19	Jaune foncé
Tmar S	0,63	6,30	Marron
Tmar O	0,60	6,05	Marron

Nous remarquons que le rendement d'extraction varie d'un stade à l'autre. Le rendement le plus élevé est obtenu au cours de premier stade de maturité (Hababouk ou Loulou), il est de  $13,96 \pm 0,12$  à  $16,20 \pm 0,34$  %, alors que le rendement le plus faible est enregistré dans les derniers stades de maturation (les échantillons de mois de septembre et d'octobre), il est de  $5,75 \pm 0,11$  à  $6,97 \pm 0,11$  %.

### 2.3.3.- Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est effectuée sur l'extrait brut qui est dilué par l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un volume de 100 ml. L'extraction est faite, en premier lieu, trois fois par l'acétate d'éthyle (1/1 : v/v) puis par le butanol-1 (3 fois) (1/1 : v/v). Les teneurs en flavonoïdes de différentes fractions (acétate d'éthyle, butanol-1 et eau) ont été mesurées et présentées dans le tableau XVII.

cours de premier stade, les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont respectivement 1448,59 mg EAG/10g et 714,00 mg ER/10g, alors leur activité anti-oxydante est 1801,50  $\mu\text{mol ET/g}$ . En dernier stade, les valeurs sont devenues 4,19 mg EAG/10g, 1,53 mg ER/10g et 62,42  $\mu\text{mol ET/g}$ . La contribution des polyphénols peut être confirmée par la corrélation positive donnée par les tests statistiques entre la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux et l'activité anti-oxydante de nos extraits due en grande partie aux polyphénols mais surtout aux flavonoïdes.

La CCM a été effectuée pour séparer et identifier les différents constituants des extraits de dattes à différents stades. Bien que les résultats ne soient pas satisfaisants, ils peuvent servir de base à des études ultérieures, avec une gamme de solvants et de conditions plus appropriées liées au profil phénolique de dattes au cours de maturité.

D'après les résultats obtenus, pour beaucoup confortés par les données bibliographiques, nous avons essayé d'expliquer le comportement alimentaire des autochtones par référence à la composition chimique et à l'activité biologique des polyphénols de dattes. Ainsi les dattes au stade Routab ou Mertouba constituent un aliment de base très important et très riche en composés particulièrement en polyphénols (1195.40 à 1457.10 mg EAG/100g) qui peuvent prévenir les agents oxydants et donc constituer une protection contre les radicaux libres développés par l'organisme et se prémunir ainsi des maladies cardiovasculaires et autres pathologies résultant d'un stress oxydatif.

Ce travail peut être approfondi en étudiant le profil phénolique de cette variété et déterminer les activités biologiques pour chaque famille chimique des polyphénols. Il est ensuite nécessaire d'étudier le profil phénolique en relation avec la taxonomie et servir comme moyen de justifier l'origine géographique des différentes variétés. Il est évident que les travaux qui vont dans le sens de la protection et conservation du patrimoine génétique sont plus que souhaitables. Il s'agit également de penser à faire des études de valorisation des variétés les moins marchandes peut être par l'amélioration de la résistance de ces variétés aux maladies, et de donner une valeur ajoutée aux sous produits de dattes (vinaigre, sirops, pattes, confiture...). En plus l'étude approfondie de la relation ou des relations entre les composés phénoliques et l'activité anti-oxydante permettra de comprendre et d'élucider les mécanismes possibles pour la fonctionnalité de la médecine traditionnelle pour le traitement de certains problèmes de santé. De même, l'étude des autres activités biologiques, en plus de l'activité anti-oxydante, par exemple l'activité anti-inflammatoire, activité anti-fongique, activité anti-cancéreuse... permet de montrer l'importance des dattes non seulement comme aliment mais aussi comme un agent protecteur de la santé.

Tableau XXIV : Résultats des spots obtenus en CCM pour la fraction du butanol-I.

Extrait	AlCl <sub>3</sub> +UV	Rf	Extrait	AlCl <sub>3</sub> +UV	Rf	Extrait	AlCl <sub>3</sub> +UV	Rf
Fleur male	Jaune	0,21	Fleur femelle	Jaune	0,21	Loulou ou Hababouk	Jaune	0,21
	Orange	0,29		Orange	0,29		Orange	0,29
	Orange	0,33		Orange	0,33		Orange	0,39
	Orange	0,39		Violet	0,55		Violet	0,55
	Violet	0,55		Orange	0,62		Orange	0,62
	Orange	0,62		Vert clair	0,78		Vert clair	0,78
	Orange	0,66		Gris	0,81		Vert clair	0,81
	Vert clair	0,81		Vert clair	0,86		Vert clair	0,86
	Vert clair	0,86		Bleu	0,93		Bleu	0,93
Bleu	0,93							
Kh'lal I ou Kimri I	Jaune	0,17	Kh'lal II ou Kimri II	Vert clair	0,17	Bser ou Khalal	Vert clair	0,17
	Bleu	0,24		Bleu	0,24		Bleu	0,24
	Orange	0,37		Orange	0,32		Orange	0,32
	Violet	0,47		Orange	0,40		Orange	0,40
	Orange	0,56		Violet	0,47		Violet	0,47
	Orange	0,63		Violet	0,51		Violet	0,51
	Orange	0,72		Orange	0,56		Orange	0,56
	Vert clair	0,83		Orange	0,63		Orange	0,63
	Rouge	0,87		Vert clair	0,87		Vert clair	0,83
	Rouge	0,93		Rouge	0,93		Rouge	0,93
Mertouba ou Rutab	Vert clair	0,22	Tmar S	Vert clair	0,22	Tmar O	Vert clair	0,22
	Jaune	0,29		Vert clair	0,29		Vert clair	0,33
	Bleu	0,44		Jaune	0,37		Jaune	0,37
	Orange	0,54		Bleu	0,44		Bleu	0,44
	Orange	0,60		Orange	0,54		Orange	0,54
	Vert clair	0,72		Orange	0,60		Orange	0,60
		Vert clair	0,72	Vert clair	0,72			

Nous constatons que certaines tâches sont communes entre tous les stades alors que certaines autres sont caractéristiques de chaque stade. Ce qui signifie que l'évolution des polyphénols est aussi bien qualitative que quantitative.

**Tableau XXV :** Activité anti-oxydante des extraits au cours de différents stades de maturité de la variété *Ghars*.

Mois Palmier	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
P1	1822,50 ± 21,30	1471,25 ± 33,76	1137,38 ± 32,79	864,06 ± 39,43	605,99 ± 22,67	220,91 ± 4,69	62,80 ± 3,54
P2	1818,00 ± 29,44	1447,50 ± 38,75	1145,63 ± 48,25	839,69 ± 30,06	583,12 ± 14,12	220,60 ± 6,43	65,00 ± 3,71
P3	1848,00 ± 20,85	1464,00 ± 46,61	1182,38 ± 46,50	874,69 ± 39,62	612,75 ± 20,26	234,98 ± 10,70	64,30 ± 3,27
P4	1791,00 ± 21,11	1415,25 ± 45,65	1126,13 ± 41,97	821,87 ± 27,92	591,00 ± 21,56	227,79 ± 11,55	65,03 ± 4,55
P5	1863,00 ± 23,98	1491,25 ± 37,55	1176,76 ± 44,04	902,81 ± 47,33	623,24 ± 23,47	241,86 ± 8,69	66,80 ± 4,11
P6	1762,50 ± 15,76	1413,75 ± 55,52	1101,38 ± 34,86	825,00 ± 22,89	579,37 ± 20,80	206,85 ± 8,98	56,90 ± 3,87
P7	1852,50 ± 63,04	1478,89 ± 40,51	1158,75 ± 31,78	884,06 ± 28,83	606,75 ± 29,12	225,60 ± 9,29	65,53 ± 3,72
P8	1797,00 ± 70,96	1463,89 ± 35,23	1167,75 ± 42,42	861,56 ± 42,34	600,74 ± 17,77	225,60 ± 7,26	63,67 ± 6,48
P9	1725,00 ± 44,61	1391,25 ± 38,54	1099,13 ± 36,89	822,19 ± 35,69	572,99 ± 18,09	199,98 ± 10,02	57,67 ± 4,20
P10	1735,50 ± 55,38	1391,39 ± 53,15	1096,88 ± 51,23	801,56 ± 32,41	568,49 ± 18,75	196,05 ± 11,54	56,50 ± 3,87

### 2.7.-Chez les fleurs mâles et femelles

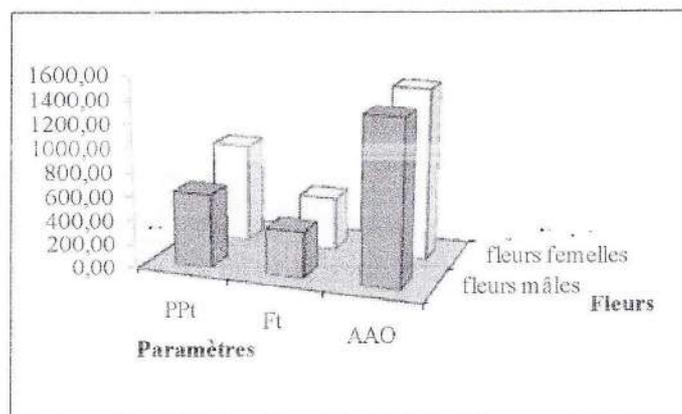
Nous avons suivi le même protocole d'extraction et de dosage des PPt et Ft pour les fleurs mâle (FM) et femelle (FF) que les dattes. Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en PPt et en Ft et l'activité anti-oxydante des fleurs femelle sont supérieures à celles des fleurs mâles (tableau XXVI).

**Tableau XXVI :** Teneur en PPt et en Ft et l'activité anti-oxydante des fleurs male et femelle de la variété *Ghars*.

Paramètres Fleurs	PPt	Ft	AAO
Fleur mâle	619,27 ± 16,86	388,08 ± 21,82	1368,89 ± 38,50
Fleur femelle	843,00 ± 14,64	445,51 ± 14,27	1449,00 ± 47,89

Bien que les flavonoïdes jouent des rôles importants chez les plantes, surtout comme des attractants des pollinisateurs, la différence de la teneur en PPt et en Ft reste incompréhensible et nécessite des études plus approfondies. Ces résultats montrent que les teneurs en PPt et en Ft varient d'une partie à une autre dans la plante. RIIHINEN et al. (2008) ont étudié la composition en flavonoïdes et en acides-phénols des différentes parties de myrtille et d'airelle. Ils ont montré qu'il y a des différences importantes des teneurs en composés phénoliques totaux et par rapport à la classe étudiée de ces composés. En plus, BARREIRA et al. (2008) ont aussi montré que les différentes parties (feuilles, fleurs, écorce et fruits) de châtaigne présentent des teneurs différentes en PPt et en Ft.

Ces teneurs en PPt et en Ft remarquables et de l'activité anti-oxydante caractéristique peuvent expliquer l'utilisation des fleurs mâles en médecine traditionnelle, dans le traitement de certaines maladies. Comme elles peuvent aussi intervenir dans la conservation des pollens par les agriculteurs durant une longue période.



**Figure 33** : Teneur en PPt et en Ft et de l'activité anti-oxydante selon les fleurs mâles et femelles de la variété *Ghars*.

### 2.8.- Test de dégustation

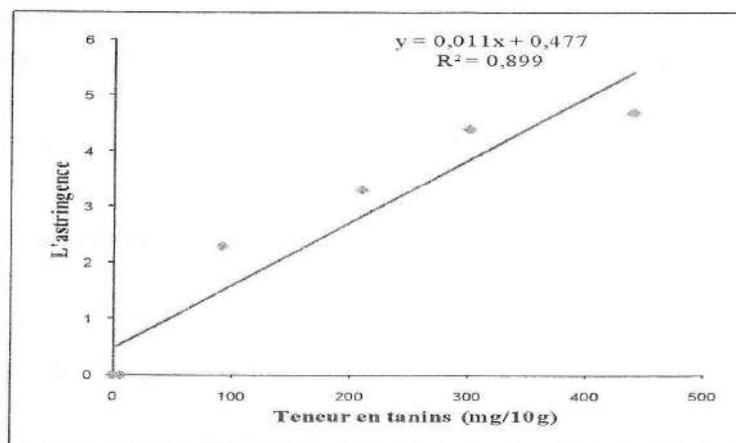
Dix personnes ont été choisies afin de déguster les dattes au cours des différents stades de maturité. Durant chaque stade, ces membres ont testé l'astringence des dattes fraîches et enregistré ce goût en fonction de sa force, en utilisant une solution d'acide tannique comme référence de goût astringent. Ce test a été effectué 3 heures après le petit déjeuner. Les résultats sont résumés dans le tableau XXVII.

**Tableau XXVII** : Résultats de test de dégustation de dattes au cours de différents stades de maturité.

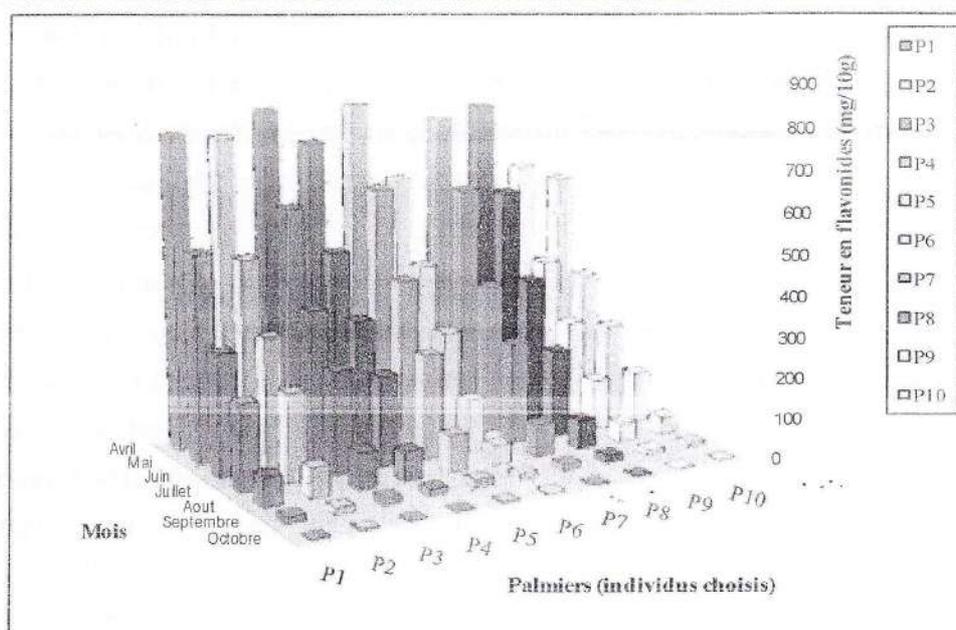
Mois Individu	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre
1	+++++	+++++	+++++	++++	++	-	-
2	+++++	++++	++++	+++	+	-	-
3	+++++	++++	+++++	+++	+	-	-
4	+++++	+++++	++++	+++	+++	-	-
5	+++++	+++++	++++	+++	+	-	-
6	+++++	+++++	++++	+++	+	-	-
7	+++++	+++++	++++	++++	+	-	-
8	+++++	++++	+++++	+++	++	-	-
9	+++++	+++++	+++++	+++	++	-	-
10	+++++	+++++	++++	+++	+	-	-

+++++ : très très fortement astringent ; ++++ : très fortement astringent ; +++ : très astringent ; ++ : astringent ; + : moyennement astringent ; - : pas d'astringence.

Les résultats obtenus ont montré que les dattes au cours des premiers stades (Loulou Ou Hababouk, Kh'lal I ou Kimri I, Kh'lal II ou Kimri II, Bser ou Khalal) sont très astringents, alors que le stade Mertouba ou Rutab sont, en général, astringent à moyennement astringent. Les dattes mures (Tmar), sont caractérisées par l'absence de l'astringence. Si on compare ces résultats avec les résultats de la teneur en tanins au cours de la maturation, nous constatons qu'il y a une relation entre les deux. Le test de corrélation qui est effectué entre la teneur en tanins et l'astringence (Fig. 35), a montré qu'il y a vraiment une corrélation importante entre les deux, ce qui nous permet de dire que la disparition du goût astringent est en fonction de la disparition des tanins dans les dattes.



**Figure 34** : La corrélation entre la teneur en tanins et l'astringence des dattes au cours de différents stades de maturité.



**Figure 29 :** Evolution de la teneur en Ft en fonction de stade de maturité et selon le palmier dattier considéré de la variété *Ghars*.

Nous constatons que les teneurs en Ft diminuent durant la maturation. Ces variations notées ont été confirmées par l'analyse de variance à deux critères (tableau XXI). Les résultats obtenus montrent qu'il existe une différence significative entre le stade de maturité et la teneur en Ft, celle-ci se traduit par des diminutions progressives des teneurs en Ft au cours de la maturité. Les teneurs en Ft des dix palmiers dattiers étudiés sont significativement différentes. On remarque aussi que l'interaction entre ces facteurs a une influence importante sur la teneur en Ft.

**Tableau XXI :** Analyse de la variance à deux facteurs de l'évolution de la teneur en Ft.

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Stade de maturité	6	25.931.880,00	4321980,00	7502,61***
Palmier dattier	9	779.724,00	86636,00	150,39***
Interaction	54	559.194,00	10355,44	17,98***
Variation résiduelle	345	198.742,00	576,06	
Totaux	414	27.469.540		

\*\*\* Très hautement significative à  $\alpha < 0,001$ .

La diminution de la teneur en Ft au cours du mûrissement des dattes semble être due à l'action des enzymes. Lors de la maturation, sous l'effet des conditions environnementales et en fonction des changements physiques et physico-chimiques des fruits, certaines enzymes peuvent être inhibées ou activées selon le type d'enzyme et les conditions optimales de leur activité. En effet, CASTREJÓN et al. (2008), ont étudié

### 2.9.- Analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales est une technique statistique permettant de réduire un système complexe de corrélation en un petit nombre de dimension. L'A.C.P. a été appliquée pour explorer la possibilité de différencier les extraits de dattes issues de dix palmiers dattiers au cours de différents stades de maturité, et de savoir la contribution des variables étudiées à cette différenciation ainsi la possibilité de généraliser les conclusions précédentes (concernant l'analyse de variance à deux facteurs).

Les variables inclus dans la matrice de données sont trois variables mesurées expérimentalement : la teneur en PPt, la teneur en Ft et l'activité anti-oxydante durant chaque stade de maturité.

Selon la matrice de corrélation, nous pouvons ressortir que les différentes variables étudiées sont fortement corrélées. Donc, l'activité anti-oxydante mesurée durant chaque stade de maturité présente une corrélation plus ou moins importante en fonction de stade avec la teneur en PPt, R est compris entre 0,597 au mois de mai et 0,904 au mois de septembre, tandis que la corrélation entre la teneur en Ft et l'activité anti-oxydante a été déterminée pour être de 0,774 au mois de juillet et 0,928 au mois de septembre. Ces résultats montrent la contribution des polyphénols et surtout les flavonoïdes dans la capacité anti-oxydante des extraits. En fin, l'activité anti-oxydante dépend du potentiel anti-oxydant des composés phénoliques individuels et de leur teneur dans les extraits.

Les deux premiers axes renferment la majorité des informations, car ils rassemblent 72,93 %. Sur ce plan, trois groupes se distinguent les uns des autres. L'axe 1 fait différencier le groupe C des autres groupes A et B. Ce groupe renferme les extraits de dattes issues de palmiers dattiers 6, 9 et 10, qui sont caractérisés par des teneurs en PPt et en Ft des activités anti-oxydantes faibles en comparaison avec les résultats des autres extraits.

Sur l'axe 2, le groupe A (en bas) se distingue du groupe B (en haut). Les extraits de groupes A sont caractérisés par des teneurs en PPt et en Ft et des activités anti-oxydantes élevées durant les mois de septembre et d'octobre, alors que les extraits du groupes B sont marqués par leurs activités anti-oxydantes importantes durant les mois mai et août due à leurs teneurs élevées en PPt et en Ft.

Les résultats de l'A.C.P. confirment et résument les résultats décrits avant. Les groupes A et B qui renferment les extraits issues des palmiers dattiers 1, 2, 3, 4, 5, 7 et 8 ont des teneurs en PPt et en Ft et des activités anti-oxydantes plus élevées en comparaison avec les extraits issus des dattiers 6, 9 et 10 qui sont regroupés dans le groupe C.

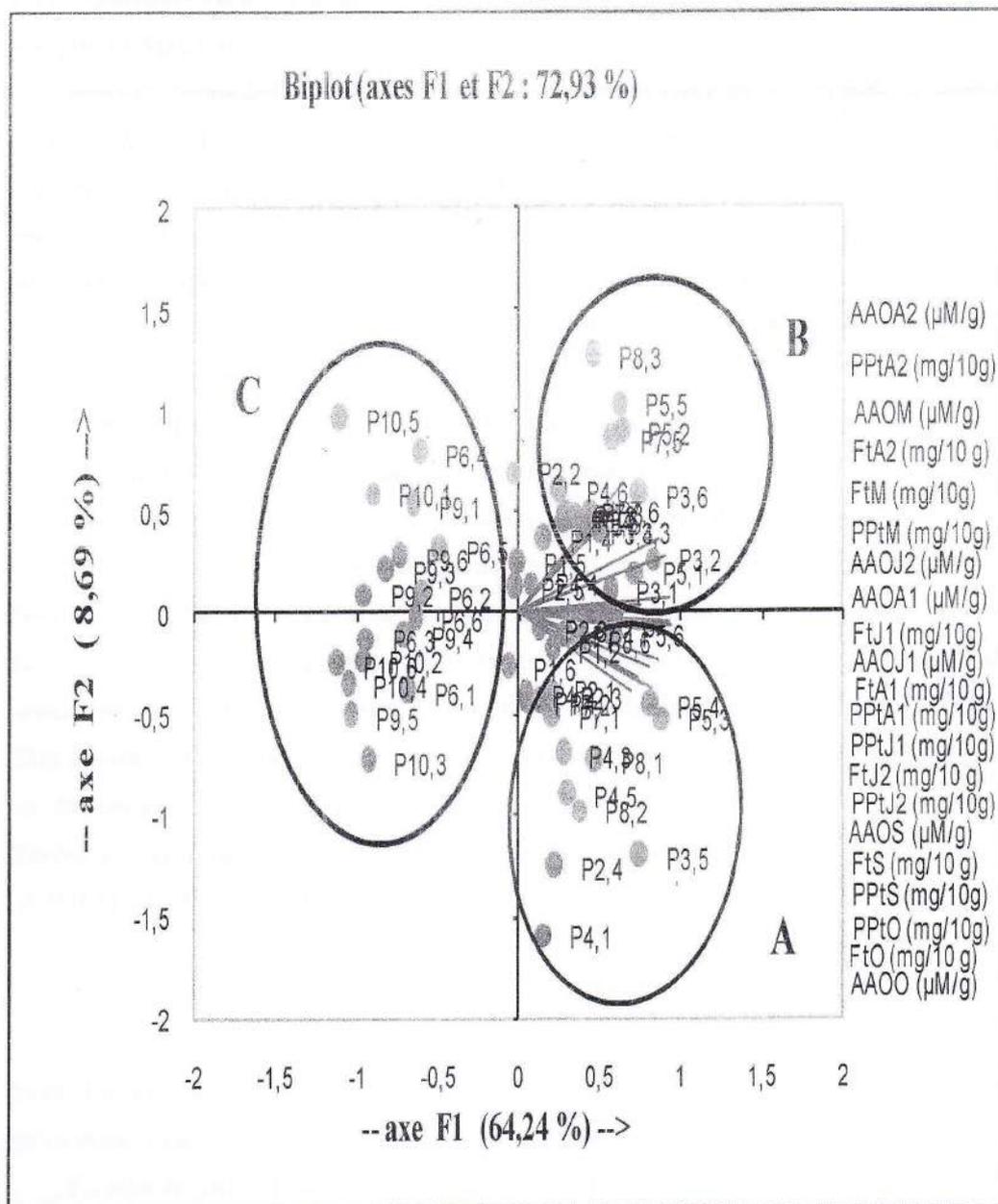


Figure 35 : Combinaison des individus et des différentes variables étudiées.

## 2.10.- Quelques caractéristiques de la consommation des dattes au cours du stade Routab ou Mertouba

En 2003, la quantité de dattes algériennes exportée représente 4,68% de la quantité totale produite (BOUDRIES *et al.*, 2007). Ce pourcentage reflète l'importance de la quantité consommée localement par les autochtones. Généralement, les dattes sont consommées au stade Routab (Mertouba) et au stade Tmar. En effet, plusieurs auteurs ont mentionné l'habitude des populations dans les régions productrices de dattes de consommer ces fruits au cours de ces deux stades (KHATCHADOURIAN *et al.*, 1983 ; SAWAYA *et al.*, 1983b ; MIKKI *et al.*, 1989 ; AHMED *et al.*, 1995).

Dans cette partie du travail, nous avons essayé de savoir si l'intérêt de consommer les dattes au stade Routab était en liaison avec la teneur en PPt, elle-même en liaison avec l'activité anti-oxydante et pouvait donc justifier ce comportement alimentaire.

Bien que nos objectifs ne sont pas directement de nous intéresser aux changements des taux des autres constituants de dattes pendant la maturation, cependant nous pouvons dire, au point de vue nutritionnel, que les dattes au stade Routab (Mertouba) présentent des teneurs en composés majeurs semblables à celles des dattes matures, surtout les glucides. Elles constituent donc une source importante d'énergie (AHMED *et al.*, 1995). Concernant les éléments minéraux, les dattes au stade Routab (Mertouba) présentent des teneurs élevées en minéraux tels que K, Mg et Na en comparaison avec les dattes matures (AHMED *et al.*, 1995). BOUDRIES *et al.* (2007), dans leur étude sur le profil des caroténoïdes de trois variétés de dattes algériennes (Daglet Nour, Hamraya et Tantebouchte) durant les trois stades de maturité (Khalal ou Bser, Routab ou Mertouba et Tmar), ont montré que les teneurs en caroténoïdes diminuent pendant le mûrissement des fruits. Ce qui signifie que les dattes, au stade Routab, sont plus riches en caroténoïdes qu'au stade Tmar.

En plus de leur richesse en éléments nutritifs, les dattes renferment aussi une quantité importante des composés phénoliques, qui varie en fonction de stade phénologique et de la variété.

Les résultats obtenus montrent que les dattes à ce stade présentent des teneurs intermédiaires en PPt. En plus leur teneur en tanins hydrolysable est faible en comparaison avec les premiers stades. Les tanins ont la propriété de précipiter les macromolécules (protéines, glucides) due à leur astringence, ce qui conduit à l'inacceptabilité de certaines personnes de consommer les dattes à ce stade. Malgré la chélation de certains métaux (Fe, Cu...) réduisant ainsi leur absorption, les tanins pourraient avoir des effets bénéfiques comme le mécanisme par lequel les polyphénols exercent leur activité anti-oxydante

(SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006). Toutefois, la population du Sahara apprécie bien de consommer les dattes relatives à ce stade.

Le tableau XXIX présente la teneur en PPt de certains fruits. Il y a des variations entre les teneurs en polyphénols de différents fruits, parfois au sein du même fruit rapportés par plusieurs auteurs. Ces différences peuvent être dues à la complexité des ces composés, les méthodes d'extraction et d'analyse utilisées ainsi que la différence entre les espèces elles mêmes et les conditions environnementales (BALASUNDRAM *et al.*, 2006). Donc la comparaison est relativement difficile. L'évolution de la teneur en PPt des dattes pendant la croissance n'a été que très peu étudiée ; les travaux à ce sujet ne sont mentionnés que par une seule publication d'AL-OGAIDI et MUTLAK (1986). Du tableau XXIX, il ressort que les dattes au stade Routab (Mertouba) ont la teneur la plus élevée en PPt en comparaison avec les autres fruits. Cette teneur remarquable en PPt peut être due aux conditions environnementales, car le palmier dattier produit des délicieux fruits en conditions extrêmement défavorables pour les autres arbres fruitiers.

**Tableau XXIX : Teneur en PPt en mg de différents fruits.**

Fruit	Teneur en PPt (mg EAG/100 g)	Référence	Commentaire
Banane	90,40 ± 3,20	SUN et al. (2002)	Production de jus, pâtisserie...
Fraise	160 ± 1,20	SUN et al. (2002)	Production de jus, pâtisserie...
Goyave	344,90 ± 33,60	THAIPONG et al. (2006)	Utilisé en médecine traditionnelle
La pomme	296,30 ± 6,40	SUN et al. (2002)	Jus très riche en PPt, vinaigre...
Prune	174 à 375	KIM et al. (2003)	Fruit sec
Raisin	375,03 ± 4,30	ZHAO et HALL III. (2008)	Production de vin
Dattes (Routab)	1195,40 à 1457,10	La présente étude	Fruit immature frais
Dattes (Tmar)	31,7 à 45,50	La présente étude	Fruit mature
Dattes (Tmar)	4,82 ± 0,09	BIGLARI et al. (2008)	Fruit mature

### Conclusion générale

Le choix du sujet est basé principalement sur le comportement alimentaire des autochtones qui ont l'habitude de consommer les dattes de cette variété au stade immature (Routab ou Mertouba) mais aussi par l'importance des polyphénols qui ont des propriétés très recherchées (pouvoir anti-oxydant, effet bactéricide, effet anti-fongique...) pour des applications très diverses dans plusieurs domaines et secteurs industriels comme le secteur de la santé, de l'agro-alimentaire et cosmétologique.

Ainsi dans ce travail, il s'agit d'étudier les composés phénoliques de dattes de variété *Ghars* provenant de la région d'El-hedjira. Ces composés, qui sont des métabolites secondaires des plantes, sont caractérisés par des noyaux benzéniques portant un groupement OH. Les fruits ont été récoltés au cours de différents stades de maturité pour différentes analyses (extraction, identification, pouvoir anti-oxydants des polyphénols).

Beaucoup de temps a été consacré aux conditions d'optimisation et d'extraction des polyphénols de dattes. Les résultats obtenus ont montré que le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols de dattes à un rapport de 80 /20 ; v/v avec l'eau, un rapport solide/liquide de 1/6 ; p /v, à la température ambiante de 23°C et pendant 5 heures. Dans l'extraction liquide-liquide, la fraction de butanol-I contient la majorité des flavonoïdes présents dans les dattes durant tous les stades de maturité, ce qui peut nous donner une idée concernant les types des flavonoïdes (glycosylés) et de la spécificité qu'à le butanol d'extraire ce type de composés.

Nous avons suivi l'évolution de la teneur en composés phénoliques durant la croissance des dattes par le dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteau, des flavonoïdes totaux en utilisant la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium et les tanins par le test du chlorure de fer. Les résultats obtenus ont montré que les taux de ces composés diminuent au fur et à mesure que les dattes mûrissent. La teneur en polyphénols totaux est compris entre 1448,59 mg/10g au stade Hababouk ou Loulou et 4,19 mg en équivalent d'acide gallique (EAG)/10g au stade Tmar. Alors que, la teneur en flavonoïdes totaux est compris entre 714,00 mg équivalent en rutine (ER)/10g au premier stade et 1,53 mg ER/10g au dernier stade.

Concernant l'activité biologique, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'activité anti-oxydante des extraits phénoliques durant chaque stade de maturité. Le test utilisé dans cette étude est le test d'ABTS. Ce test a été utilisé pour examiner le pouvoir des extraits à piéger le radical ABTS<sup>•+</sup>. L'activité anti-oxydante au cours de la maturation a graduellement augmenté proportionnellement aux teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Au

Annexe I : Composition de dattes de différentes variétés.

pays	variété	eau	protéines	lipides	Sucres totaux	cendres	Fibres brutes	Références
Algérie	Deglet Nour	20	2.20	0.60	73	1.15	nd	HUSSON cité par MUNIER, 1973
	Barhi	11.55	2.60	>0.1	88.02	2.08	nd	
Arabie saoudite	Safi	11.53	2.03	>0.1	87.53	2.16	nd	RAHMAN <i>et al</i> , 2007
	Hilwa	11.1	2.15	0.28	76.8*	1.69	3.26	SAWAYYA <i>et al</i> , 1983a.
	Suwairi	14.8	2.33	0.18	77.6*	1.83	2.65	* SAWAYYA <i>et al</i> , 1983b.
UEA	Nagal	9.2	2.7	0.2	44.3	1.9	nd	
	Khunaizy	25.1	3.0	0.1	53.9	1.4	nd	
	Fard	27.7	2.1	0.1	59.5	1.8	nd	AHMED <i>et al</i> , 1995.
Irak	Hallawi	19.0	1.7	1.9	73.7	1.2	2.2	CLEVELAND et FELLERS, 1932 (DOWSON et ATEN, 1963)
	Sardi	16.54	1.57	0.37	67.51	1.63	nd	DOWSON et ATEN, 1963.
Libye	Mabseeli	14.58	1.15	3.25	79.61	1.41	5.94	
	Um-Sllah	9.73	1.97	2.04	84.45	1.99	8.72	Al-FARSI <i>et al</i> , 2007
	Shahal	17.52	1.10	2.20	77.34	1.84	8.46	
Oman	Khalas	28.4	1.81	0.023	51.3	1.76	1.76	RAHMAN <i>et al</i> , 2007
	Barjawi	13.0	2.01	0.16	66.5	3.0	3.16	
Soudan	Tamoda	10.9	1.87	0.17	63.9	2.6	2.47	
	Jawa	10.6	2.67	0.28	66.9	3.1	4.28	KHATAB <i>et al</i> , 1983

nd : non déterminé.

## Références bibliographiques

1. ACOURENE S. et TAMA M., 2002- Effets de quelques opérations culturales (pollinisation, limitation, ciselage et ensachage) sur le rendement et la qualité de la date de la variété Deglet-Nour de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *recherche Agronomique; INRA d'Alger*, 11: 27-48.
2. AHMED I. A., AHMED A. W. K. et ROBINSON R.K., 1995- Chemical composition of date varieties as influenced by the stage of ripening. *Journal of Food Chemistry*, vol. 54: 305-309.
3. ALASAVAR C., AL-FARSI M., QUANTICK P. C., SHAHIDI F. et WIKTOROWICZ R., 2005- Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. *Journal of Food Chemistry*, vol. 89: 69-76.
4. AL-FARSI M. A. et LEE C. Y., 2008- Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Journal of Food Chemistry*, vol. 108: 977-985.
5. AL-FARSI M., LASAVAR C., AL-ABID M., AL-SHOAILY K., AL-AMRY M. et AL-RAWAHY F., 2007- Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Journal of Food Chemistry*, vol. 104: 943-947.
6. ALLAM A., ACOURENE S. et TALEB B., 2004- Etude de la diversité génétique de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) des régions d'Oued-Righet Oued-Souf. *Revue des Régions Arides*. Tunisie: numéro spécial, tome 1.
7. AL-OGAIDI H. K. et MUTLAK H. H., 1986- The phenolic compounds of four date cultivars during maturity stages. *The Date Palm Journal*, vol. 4: 191-203.
8. ALVESALO J., VUORELA H., TAMMELA P., LEINONEN M., SAIKKU P. et VUORELA P., 2006- Inhibitory effect of dietary phenolic compounds on *Chlamydia pneumoniae* in cell cultures. *Journal of Biochemical Pharmacology*, vol. 71: 735-741.
9. ANAND P. K., KAUL D. et SHARMA M., 2006- Green tea polyphenol inhibits *Mycobacterium tuberculosis* survival within human macrophages. *Journal of Biochemistry & Cell Biology*, vol. 38: 600-609.
10. ARABSHAHI-DELOUEE S. et UROOJ A., 2007- Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Journal of Food Chemistry*, vol. 102: 1233-1240.
11. ARNOUD P., 2004- Chime organique. Ed. Dunod, Paris: 399-404.
12. AUDIGIE C., FIGARLLA J. et ZONZAIN F., 1984- Manipulations d'analyse biochimique. Ed. DOIN, Paris: 1-5.
13. AYAZ F. A., DEMIR O., TORUN H., KOLCUGLU Y. et COLAK A., 2008- Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. *Journal of Food Chemistry*, vol. 106: 291-298.
14. BACCOURI O., GUERFEL M., BACCOURI B., CERRETANI L., BENDINI A., LERCKER G., ZARROUKM. et BEN MILED D. D., 2008- Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Journal of Food Chemistry*, vol. 109: 743-754.
15. BAH S., JÄGER A. K., ADSERSEN A., DIALLO D. et PAULSEN B. S., 2007- Antiplasmodial and GABA<sub>A</sub>-benzodiazepine receptor binding activities of five plants used in traditional medicine in Mali, West Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 110: 451-457.
16. BALASUNDRAM N., SUNDRAM K. et SAMMAN S., 2006- Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Journal of Food Chemistry*, vol. 99: 191-203.

36. CHUN S. S., VATTEM D. A., LIN Y. T. et SHETTY K., 2005- Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Journal of Process Biochemistry*, vol. 40: 809-816.
37. CURTAY J.-P. et ROBIN J.-M., 2000- Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrition INFO*, octobre 2000.
38. D. P. A. T., 2006 : Direction de la Planification et de l'Amenagement du Territoire, *Annuaire Statistiques de 2006 de la Wilaya de Ouargla*.
39. D. S. A., 2007- Direction des Services Agricole de Ouargla.
40. de RIJKE E., OUT P., NIESSEN W. M. A., ARIESE F., GOOIJER C. et BRINKMAN U. A. Th., 2006- analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, vol. 1112: 31-63.
41. DIALLO A., 2005- Etude de la phytochimie et des activités biologiques *Syzygium guineense* Walld. (Myrtaceae). Thèse de doctorat de l'université de Bamako : 11-30.
42. DOWSON V. H. W. et ATEN A., 1963- Recoltes et conditionnement de dattes. FAO, Rome : 1, 16-51, 316-317.
43. DRUZYNKA B., STEPNIIEWSKA A. et WOLOSIAK R., 2007- The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, vol. 6: 27-36.
44. ELLEUCH M., BESBES S., ROISEUX O., BLECKER C., DEROANNE C., DRIRA N. E. et ATTIA H., 2008- Date flesh : chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Journal of Food Chemistry*, vol. 111: 676-682.
45. ENOMOTO T., NAGASAKO-AKAZOME Y., KANDA T., IKEDA M. et DAKE Y., 2006- Clinical effects of apple polyphenols on persistent allergic rhinitis: a randomized double-blind placebo-controlled parallel arm study. *J Investig Clin Immunol*, vol. 16: 283-289.
46. ES-SAFI N.-E., CHEYNIER V. et MOUTOUNET M., 2003- Implication of phenolic reactions in food organoleptic properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 16 : 535-553.
47. FAVIER A., 2003- Le stress oxydant. *Journal d'actualité chimique*, novembre-décembre : 108-115.
48. FERRY M., 1996- La crise du secteur phoenicicole dans les pays méditerranéens. Quelles recherches pour y répondre ? Actes des séances plénières des journées internationales d'Elche, 25-27 avril 1995. *Option Méditerranéennes*, Sér. A/28, CHEAM.
49. FRELON S., 2001- Influence de métaux de transition sur la dégradation radicalaire de l'ADN. Thèse de doctorat de l'université Joseph Fourier-Grenoble I : 7-25.
50. GABORIAUD R., 1996- Physico-chimie des solutions. Ed. MASSON, Paris: 208-228.
51. GATTO M. T., FALCOCCHIO S., GRIPPA E., MAZZANTI G., BATTINELLI L., NICOLOSI G., LAMBUSTA D. et SASO L., 2002- Antimicrobial and anti-lipase activity of quercetin and its C2-C16 3-O-acyl-esters. *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 10: 269-272.
52. GHEDIRA K., 2005- Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, vol. 4 : 162-169.
53. GINOLHAC A., GUEZENEC A., DeGUEMBERCKER D., LEFEVRE F., POUMES C., NALIN R., GUESNET J. et AURIOL D., 2007- enzymatically modified flavonoids: innovative precursors of actives released by skin microflora. *Congrès International de Recherche en Cosmétologie, Revue Orléans*, 2007.
54. GIROTTI-CHANU C., 2006- Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis*. Thèse de doctorat de l'institut national des sciences appliquées de Lyon : 32-37.

123. SUN J., CHU Y.-F., WU X., et LIU R. H., 2002- Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Food Chemistry*, vol. 50: 7449-7454.
124. TABART J., KEVERS C., SIPEL A., PINCEMAIL J., DEFRAIGNE J.-O. et DOMMES J., 2007- Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and stability during storage. *Journal of Food Chemistry*, vol. 105: 1268-1275.
125. TAMIL SELVI A., JOSEPH G.S. et JAYAPRAKASHA G.K., 2003- Inhibition of growth and aflatoxin production in *Aspergillus flavus* by *Garcinia indica* extract and its antioxidant activity. *Journal of Food Microbiology*, vol. 20: 455-460.
126. THAIPONG K., BOONPRAKOB U., CROSBY K., CISNEROS-ZEVALLOS L. et BYRNE D. H., 2006- Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 19: 669-675.
127. TRAVERS I., 2004- Influence des conditions pédoclimatiques du terroir sur le comportement du pommier et la composition des pommes à cidres dans le Pays d'Auge. Thèse de doctorat de l'Université de CAEN : 15-31.
128. TROUILLAS P., CALLISTE C. A., ALLAIS D. P., SIMON A., MARFAK A., DELAGE C. et DUROUX J. L., 2003- Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Journal of Food Chemistry*, vol. 80: 399-407.
129. TURKOGLU A., DURU M. E., MERCAN N., KIVRAK I. et GEZER K., 2007- Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Journal of Food Chemistry*, vol. 101: 267-273.
130. VERMERRIS W. et NICHOLSON R., 2006- Phenolic compounds biochemistry. Ed. Springer: 1-58.
131. WANCHAITANAWONG P., CHAUNGWANIT P., POOVARODOM N. et NITISINPRASERT S., 2005- *in vitro* antifungal activity of Thai herb and spice extracts against food fungi. *Kasetsart J (Nat. Sci.)* 39: 400-405.
132. WANG H., GAO X. D., ZHOU G. C., CAI L. et YAO W. B., 2008- *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Journal of Food Chemistry*, vol. 106: 888-895.
133. WILLIAMS C. A. et HARBORNE J. B., 1971- Flavonoid patterns in the monocotyledons. Flavonols and flavones in some families associated with the *Poaceae*. *Journal of Phytochemistry*, vol. 10: 1059-1063.
134. YEH C. T. et YEN G. C., 2006- Modulation of hepatic phase II phenol sulfotransferase and antioxidant status by phenolic acids in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 17: 561-569.
135. YOUSFI H., TAHRI EI H., EL AMRANI A. et SERGHINI-CAID H., 2006- Etude de l'effet antioxydant des anthocyanes de l'Olive, du Raisin rouge, du Chou rouge et de la Fraise. *Congrès International de Biochimie. Agadir, 09-12 Mai 2006*.
136. YU L. L., ZHOU K. et PARRY J. W., 2005- Inhibitory effects of wheat bran extracts on human LDL oxidation and free radicals. *LWT*, vol. 38: 463-470.
137. YU L., 2006- Wheat anti-oxidants. John WILEY & sons, INC., Publication, Canada: 125-130.
138. ZAFRILLA P., MULERO J., XANDRI J. M., SANTO E., GARAVACA G., MORILLAS J. M., 2007- Stress oxydatif dans différents stades de la maladie d'Alzheimer. *Maladie d'Alzheimer et déclin cognitif*, vol. 12 : 131-137.
139. ZAHER H. et BAAZIZ M., 2006- Contribution à l'étude de l'identification des pieds mâles et femelle chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par l'utilisation des marqueurs moléculaires RAPD. *Congrès International de Biochimie. Agadir, 09-12 Mai 2006*.

140. **ZAID A.**, 2002- Date palm cultivation. Chapitre 1 et 2 téléchargés à partir de web site FAO: [www.FAO.org](http://www.FAO.org) à 12/2/2008.
141. **ZAIDI –YAHIAOUI R., ZAIDI F. et AIT BESSAI A.**, 2008- Influence of gallic and tannic acids on enzymatic activity and growth of *Pectobacterium chrysanthemi* (*Dickeya chrysanthemi* bv. *chrysanthemi*). *African Journal of Biotechnology* vol. 7: 482-486.
142. **ZHAO B. et HALL III C. A.**, 2008- Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. *Journal of Food Chemistry*, vol. 108: 511-518.
143. **ZHAO M., YANG B., WANG J., LI B. et JIANG Y.**, 2006- Identification of the major flavonoids from pericarp tissues of lychee fruit in relation to their antioxidant activities. *Journal of Food Chemistry*, vol. 98: 539-544.

144. م. ع. هيماريا. 1998. ج. ن. م. خليفة. الوطن في إنتاجها و، رعايتها، زراعتها، التمر نخلة المعارف منشأة العربي. الإسكندرية: 107 - 148.

## EXTRACTION, IDENTIFICATION ET ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES POLYPHENOLS DES DATTES AU COURS DE DIFFÉRENTS STADES PHÉNOLOGIQUES (VARIÉTÉ GHARS).

### Résumé

Les échantillons de dattes (variété *Ghars*) récoltés à différents stades de maturité sont lyophilisés et ont, par la suite, subi les analyses pour déterminer leur teneur en matière sèche, en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins hydrolysables. L'activité anti-oxydante des composés phénoliques a été étudiée. La teneur en matière sèche de dattes augmente au fur et à mesure que les dattes mûrissent pour atteindre sa valeur maximale au cours de stade Tmar  $92,92 \pm 0,07$  à  $94,27 \pm 0,04\%$ . Les conditions optimales d'extraction des polyphénols de dattes ont été déterminées en utilisant la méthode conventionnelle d'extraction solide-liquide. Durant 5 heures, à  $23^\circ\text{C}$  avec un rapport solide : liquide de 1 : 6 sont considérées comme des conditions optimales pour l'extraction. Le méthanol (80%) est le plus efficace solvant pour l'extraction des polyphénols de dattes. Les résultats obtenus montrent l'évolution de la teneur en composés phénoliques durant le mûrissement de dattes. Le contenu en polyphénols totaux est compris entre 1448,59 mg/10g au stade Hababouk ou Loulou et 4,19 mg en équivalent d'acide gallique (EAG)/10g au stade Tmar. Tandis que le contenu en flavonoïdes totaux exprimé en équivalent de rutine (ER) est compris entre 714,00 mg/10g au premier stade et 1,53 mg/10g au dernier stade. Concernant l'activité anti-oxydante, nous avons observé qu'elle est proportionnelle à l'évolution des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes. Elle varie de 1801,50  $\mu\text{mol}$  équivalent en Trolox/g au premier stade à 62,42  $\mu\text{mol}$  équivalent en Trolox/g au cours de dernier stade. Les tanins hydrolysables diminuent au cours de la croissance pour disparaître au dernier stade. La caractérisation de différents extraits phénoliques par la chromatographie sur couche mince (CCM) montre l'évolution qualitative et quantitative des polyphénols. Les résultats obtenus sur la teneur en polyphénols et sur l'activité anti-oxydante, ont permis de justifier le choix alimentaire des autochtones qui consiste à consommer les dattes immatures (Routab ou Mertouba). Au vu des résultats obtenus par rapport au contenu des composés phénoliques et par rapport à leur activité anti-oxydante ; les dattes peuvent être considérées comme une source importante d'anti-oxydants et par la même occasion constituer une protection de la santé.

**Mots clés :** Dattes, variété *Ghars*, stades de maturité, optimisation d'extraction, polyphénols, flavonoïdes, activité anti-oxydante.

## EXTRACTION, IDENTIFICATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF DATE FRUITS POLYPHENOLS AT DIFFERENT STAGES OF RIPENING (GHARS VARIETY).

### Summary

The samples of dates (*Ghars* variety) collected at different stages of ripening were lyophilized and examined for their dry matter, total polyphenols, total flavonoids and tannins contents. The anti-oxidant activity of phenolic compounds was studied. Dry matter of dates increased proportionality with the ripening of dates fruits, Tmar stage having the highest levels from  $92,92 \pm 0,07$  to  $94,27 \pm 0,04\%$ . The optimal conditions for extraction of dates fruit polyphenols were determined using the conventional liquid-solid method. During 5 hours, at  $23^\circ\text{C}$  with a sample to solvent ratio of 1/6, were considered optimum. Methanol (80%) was the most effective solvent for extraction of polyphenols. The results exhibited the evolution of phenolics compounds content during the dates maturation. Average total polyphenols ranged from 1448.59 mg/10g at Hababouk or Loulou stage to 4.19 mg gallic acid equivalent (EAG)/10g at Tmar stage. However, the total flavonoids content were 714.00 mg/10g at the first stage and 1.53 mg rutin equivalent (RE) /10g at the last stage. Concerning the anti-oxidant activity, we observed that it followed the same way like polyphenols and flavonoids contents. The hydrolysable tannins increased during the maturation until their disappearing at the last stage. The characterization of our different extracts with thin layer chromatography (TLC) showed that the evolution of polyphenols was quantitative as well as qualitative. The results obtained concerning polyphenols content and anti-oxidant activity were allowed us to justify the food mode of native which consist to consume unripe dates (Routab or Martouba). Upon presentation of the results with regard to content of phenolic compounds and their anti-oxidant activity; date fruits may be considered as an important source of anti-oxidants and constitute occasionally a health protection.

**Keywords:** dates, *Ghars* variety, different stages of ripening, optimization of extraction, polyphenols, flavonoids, anti-oxidant activity.

استخلاص، تحديد و دراسة النشاط البيولوجي لفينولات التمر لنوعية الغرس خلال المرحل المختلفة للنضج

المخلص:

تم جمع عينات من التمر (نوعية الغرس)، و تجفيفها (lyophilisé) خلال مراحل النمو المختلفة. العينات المحصل عليها تم اختبارها لتحديد محتواها من: المادة الجافة، الفينولات الكلية، الفلافونيدات الكلية، المواد القابضة الذائبة بالإضافة إلى النشاط المقاوم للأكسدة. محتوى التمر من المادة الجافة يرتفع كلما نضج التمر حتى يصل إلى القيمة القصوى خلال مرحلة التمر بين  $92,92 \pm 0,07$  و  $94,27 \pm 0,04\%$ . الظروف الملائمة لاستخلاص الفينولات من التمر حددت باستخدام الطريقة المتبعة لاستخلاص صلب-سائل. خلال 5 ساعات،  $23^\circ\text{C}$  مع 6/1 نسبة الصلب/السائل، اعتبرت ملائمة لاستخلاص. الميثانول (80%) هو السائل الأكثر فعالية لاستخلاص فينولات التمر. النتائج المحصل عليها أثبتت تطور محتوى المركبات الفينولية خلال النضج حيث تراوحت كمية هذه الأخيرة بين 1448.59 مغ/10 غ في مرحلة الحبابوك أو اللولو و 4.19 مغ/10 غ مكافئ لحمض الغاليك (acide gallique) في مرحلة التمر. بينما كانت كمية الفلافونيدات، المعبر عنها بالمكافئ للروتين (rutine)، تراوحت بين 714.00 مغ/10 غ في المرحلة الأولى و 1.53 مغ/10 غ في المرحلة الأخيرة. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة، لاحظنا بأنه تطور بنفس الطريقة كما تطور محتوى الفينولات و الفلافونيدات. تراوح هذا النشاط بين 1801.50 ميكرومول/10 غ مكافئ لترولوكس (Trolox) في المرحلة الأولى و 62.42 ميكرومول/10 غ في المرحلة الأخيرة. محتوى المواد القابضة الذائبة انخفض خلال النضج ليختفي في المرحلة الأخيرة. تمييز المستخلصات المختلفة بطريقة الفصل اللوني نوع الطبقة الرقيقة أظهر بأن التطور لا يتم فقط كميًا و إنما نوعيًا أيضًا. النتائج المحصل فيها يتعلق بمحتوى الفينولات و النشاط المضاد للأكسدة سمحت لنا بتبرير الاختيار الغذائي للسكان المحليين و المتمثل في استهلاك التمر غير الناضج (رطب أو مرطوب). بالنظر للنتائج المحصل عليها فيما يخص كمية الفينولات و نشاطها المضاد للأكسدة، يمكن اعتبار التمر مصدر مهم للمضادات للأكسدة و بالتالي عامل حماية للصحة.

الكلمات المفتاحية: التمر، نوعية الغرس، مراحل النضج، تحسين استخلاص الفينولات، الفينولات، الفلافونيدات، النشاط المضاد للأكسدة.

**Annexe 3 : Analyse de la variance des paramètres étudiés pour l'optimisation de l'extraction (teneur en polyphénols)**

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Rapport ROH/H <sub>2</sub> O	5	167.217,78	33.443,55	681,63 ***
Type de solvant	1	159.636,19	159.636,19	3.253,64 ***
Interaction	5	8.681,31	1.736,26	35,39***
Variation résiduelle	22	1.079,41	49,06	
Totaux	33	336.614,69		
Rapport S/L	4	1.407.644,25	351.911,06	6.515,20***
Type de solvant	1	230.672,13	230.672,13	4.270,61***
Interaction	4	85.295,13	21.323,78	394,78***
Variation résiduelle	18	972,25	54,01	
Totaux	27	1.724.583,76		
Température	2	229.589,19	114.794,59	3779,63***
Type de solvant	1	67.591,91	67.591,91	2225,48***
Interaction	2	20.751,97	10.375,98	341,63***
Variation résiduelle	10	303,72	30,37	
Totaux	15	318236,79		
Temps d'extraction	5	355.032,38	71006,48	1.670,41***
Type de solvant	1	134.328,28	134328,28	3.160,03***
Interaction	5	6.611,41	1322,28	31,11***
Variation résiduelle	22	935,19	42,51	
Totaux	33	496.907,26		

\*\*\* Très hautement significative à  $\alpha < 0.001$

**Annexe 4 : Analyse de la variance des paramètres étudiés pour l'optimisation de l'extraction  
(teneur en flavonoïdes)**

Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Rapport ROH/H <sub>2</sub> O	5	19.964,00	3.992,80	103,56***
Type de solvant	1	72.452,49	72.452,49	1.879,14***
Interaction	5	2.298,21	459,64	11,92***
Variation résiduelle	22	848,23	38,56	
<b>Totaux</b>	<b>33</b>	<b>95.562,93</b>		
Rapport S/L	4	352.992,47	88.248,12	903,93***
Type de solvant	1	63.451,63	63.451,63	649,94***
Interaction	4	4.758,53	1.189,63	12,19***
Variation résiduelle	18	1.757,28	97,63	
<b>Totaux</b>	<b>27</b>	<b>422.959,91</b>		
Température	2	64.084,63	32.042,32	1.958,37***
Type de solvant	1	12.450,41	12.450,41	760,95***
Interaction	2	3.464,42	1.732,21	105,87***
Variation résiduelle	10	163,62	16,36	
<b>Totaux</b>	<b>15</b>	<b>80163,08</b>		
Temps d'extraction	5	39.429,94	7.885,99	202,28***
Type de solvant	1	68.373,53	68.373,53	1.753,85***
Interaction	5	3.051,90	610,38	15,66***
Variation résiduelle	22	857,66	38,98	
<b>Totaux</b>	<b>33</b>	<b>111.713,03</b>		

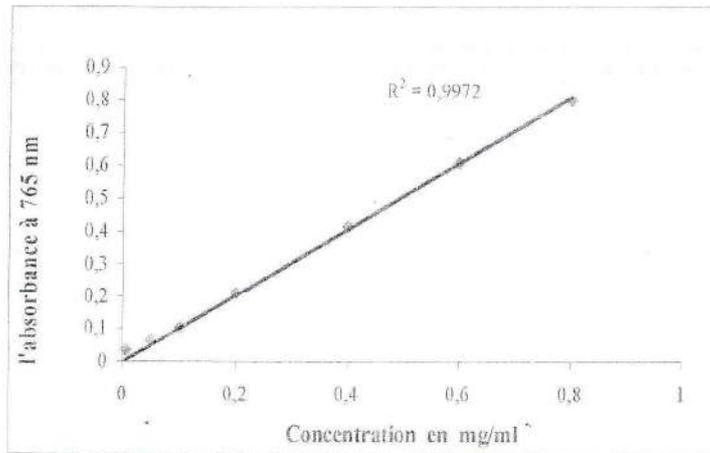
\*\*\* Très hautement significative à  $\alpha < 0.001$

**Annexe 5 : Analyse de la variance de l'extraction liquide-liquide.**

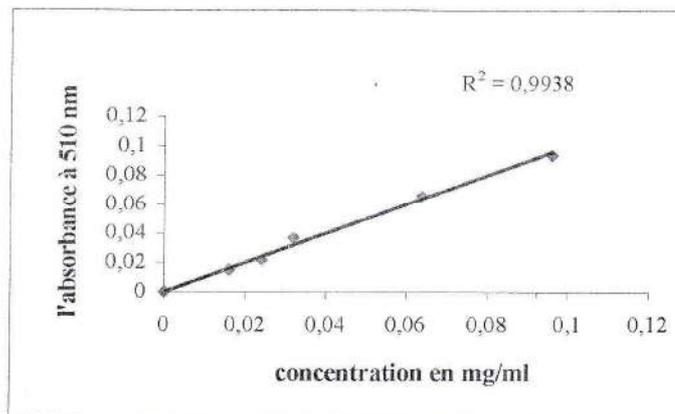
Source de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Stade de maturité	6	635.242,94	105.873,82	1.239,40***
Type de solvant	2	288.956,88	144.478,44	1.691,31***
Interaction	12	301.176,31	25.098,03	293,81***
Variation résiduelle	100	8.542,38	85,42	
<b>Totaux</b>	<b>120</b>	<b>1.233.918,51</b>		

\*\*\* Très hautement significatif

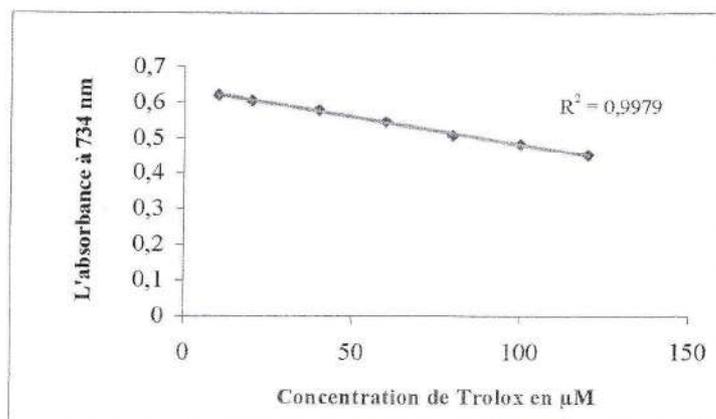
Annexe 7 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.



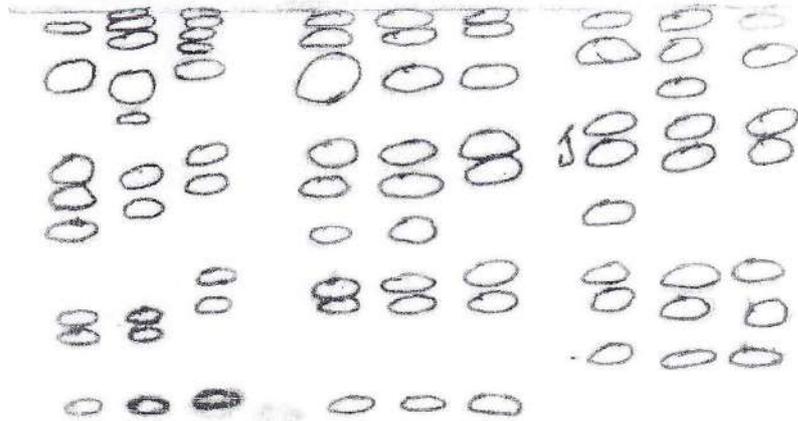
Annexe 8 : Courbe d'étalonnage de la rutine.



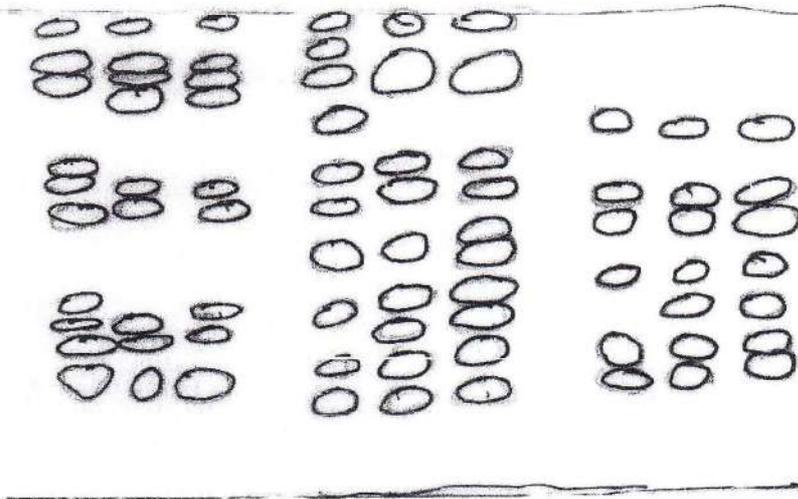
Annexe 9 : Courbe d'étalonnage de Trolox.



Annexe 12 : Chromatogramme des extraits obtenus par CCM.



A : Chromatogramme de la fraction d'acétate d'éthyle.



B : Chromatogramme de la fraction de butanol-1.