

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique Université Ibn Khaldoun –Tiaret–  
Faculté Sciences de la Nature et de  
la Vie Département Sciences de la  
Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de MasterA académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie et sécurité alimentaire

Présenté par :

- **ABADLIA Fatiha**
- **BOUKENOUDA Ibtissem**

*Thème*

Etude phytochimique et activités biologiques de l'extrait  
polyphénolique des dattes « *Phoenix dactylefera*L. »

Soutenu le 28/09/2020

**Jury:**

**Président:** MrABBES.A.

**Encadrant:** MmeKHADEM.H.

**Examineur :** MmeBOUBAKEUR.B.

**Grade**

MCA

MAA

MCB

Année universitaire 2019-2020

# *Remerciements*

Nous remercions *ALLAH* tout puissant, de nous avoir accordé la force, le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions vivement notre encadrante M<sup>me</sup> Khadem H. d'avoir accepté de nous guider, pour ses encouragements, ses orientations et ses conseils constructifs tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions le président de jury MrABBESA.et l'examinatrice Mme Boubakeur B. pour le grand honneur qu'ils nous font en acceptant de juger ce travail.

Nous adressons nos remerciements ainsi à tout le personnel du laboratoire de Biochimie, et de Technologie Alimentaire de la faculté SNV et du laboratoire de recherche "Amélioration et Valorisation des Productions animales Locales ".

# Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, la lumière de ma vie, pour leurs sacrifices, leur amour, encouragements et soutiens durant toutes mes études.

Ames frères *Med Amine - Radouane- Abd el hamid*

Ames sœurs *Fatima - Aicha – Sara- Soumia- Hadjer*

**A** Mohamed Idriss - Yousra

A mes meilleures amies *Chahrazed- Salema*

A la famille *BOUKENOUDA*

A ma chère binôme *ABADLIA Fatiha*



# Dédicace

Je dédie ce travail

**A** ma très chère maman bien aimée, pour ses sacrifices,  
son amour, sa tendresse, son soutien et ses prières.

**A** mon père

**A** mes sœurs *Sihemet Rabia*

**A** mes frères *Snouciet Mohamed*

**A** mon marie *Khelifa Mustapha*

**A** mes amies Ibtissem- Chahrazad- Salma

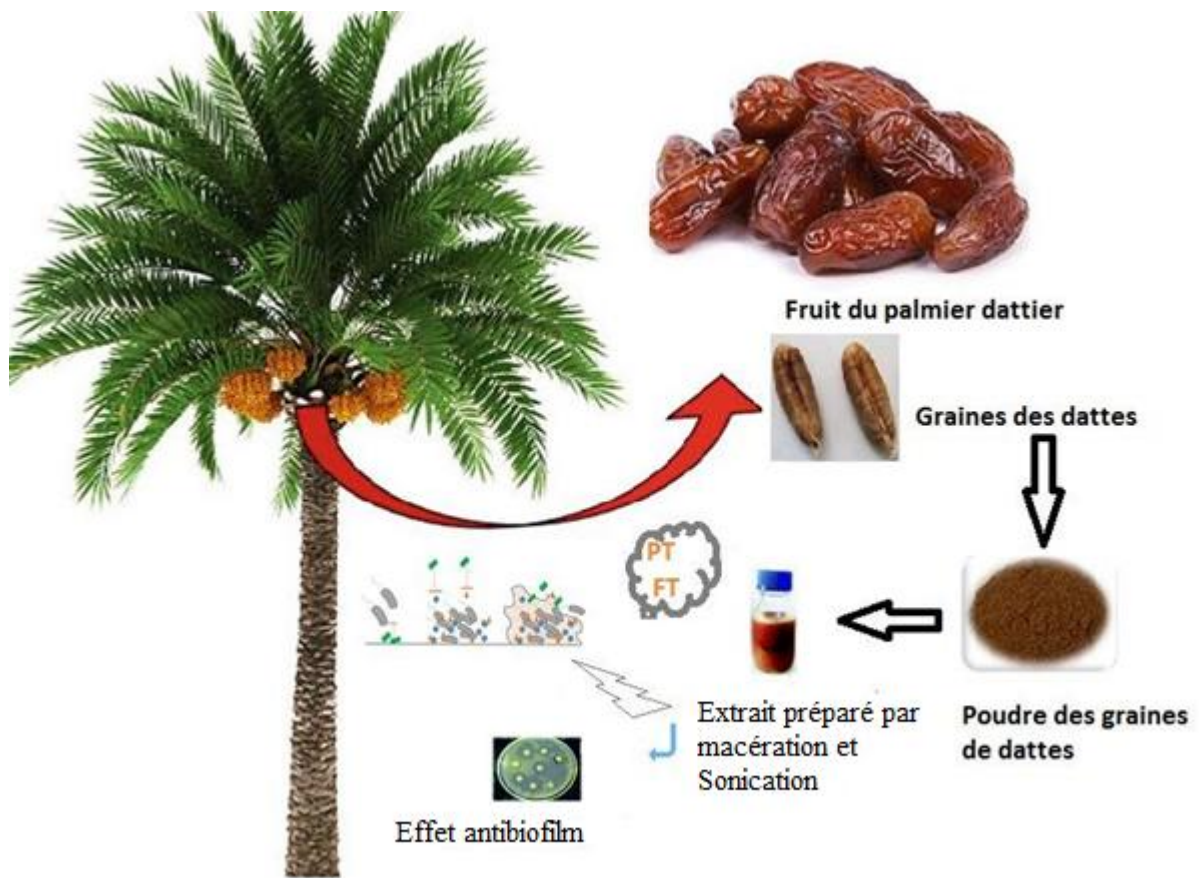
**A** toute personne que je n'ai pas mentionnée, j'aimerai  
vous dire que vous resterez toujours dans mon cœur



## Résumé graphique

---

---



## *Résumé*

---

Le fruit du dattier est consommé dans le monde entier, grâce à son caractère nutritif et savoureux. En outre, ce produit sert en médecine populaire à soigner les maladies du foie et est fortement recommandé aux femmes enceintes. L'importance du palmier dattier ne se limite pas aux produits de récoltes (dattes), mais aussi aux sous-produits (rebus de dattes, noyaux, palmes) dont l'intérêt pour leur valorisation est en importante croissance. Au fil des ans, de nombreuses recherches ont été publiées concernant divers sujets liés au palmier- dattier. Les graines issues des dattes sont aussi d'un grand usage, elles servaient à la préparation de multiples produits de nature alimentaire ou cosmétique.

La présente contribution vise à définir la teneur totale en polyphénols et flavonoïdes des noyaux de datte de la variété **azazra**, très consommée par la communauté locale, dans l'optique de valoriser *in vitro* un des sous-produits du palmier dattier. Différentes méthodes d'extraction ont été utilisées, la macération (70°C/ 2h/agitation) et la sonication (36 kHz/45 min), contribuant ainsi à des rendements de 10±0.3% à 9±0.1%, et des teneurs en polyphénols variables, de 9±1.23 et 7±2.22 mg Eq AG/ d'extrait respectivement. Toutefois, au vu de la situation sanitaire, il était impossible d'achever le travail expérimental, en outre, nos résultats se sont limités seulement à ceux décrits précédemment.

En effet les graines de dattes peuvent être une source alternative, la moins coûteuse et la plus sûre de substances actives naturelles à pouvoir antibactérien, antioxydant et antibiofilm.

**Mots clés:** Palmier dattier- graines Dattes- - Polyphénols- Pouvoir antibactérien- Antibiofilm

## ***Abstract***

*Dates are consumed all over the world For their toitsnutritionaland tasteful properties. In addition, these product serves in folk medicine to treat liver diseases and is highly recommended for pregnant women. Importance of the date palm is not restricted to crops (dates), but also to its sub-products (dates craps,pits,palms)for which the in terestin their valorization is growing significantly. Numerous researches concerning various subjects related to date palm have been published over the years. Seeds from dates are also of great utility, they were used in the preparation of multiple food or cosmetic products.*

*The present contribution aimed to define the total content of polyphenols and flavonoids in pits of azazra date variety, which is very much consumed by the local community, hoping to valorize in vitro one of their sub-products. Different extraction methods were applied, maceration(70°C/2h/stirring)and sonication(36kHz/45min),leading to yields of 10±0.3% to 9±0.1%, and variable polyphenol contents, of 9±1.23and7±2.22mgEqAG/extract respectively However, due to the sanitary situation, it was impossible to achieve the experimental work, fur the more, our results were limited only to those described above.*

*In fact, date seeds maybe an alternative, cheape stand safest source of natural active substances with antibacterial, antioxidant and antibiotic film power.*

***Keywords:*** *Date Palm-seeds-Dates-Polyphenols-Antibacterial power- Antibiofilm*

## *Liste des figures*

---

<b>Figure 1-1</b> stades de maturation des dattes.....	5
<b>Figure 1-2</b> Production de dattes (millions de tonnes) dans les dix premiers pays producteurs en 2012 .....	6
<b>Figure 1-3</b> Zones de production des dattes en Algérie.....	7
<b>Figure 2-1</b> Etapes de l'expérimentation.....	12
<b>Figure 2-2</b> Échantillons des dattes, des noyaux et poudre obtenue.....	13
<b>Figure 2-3</b> Rendement d'extraction et teneur en polyphénols .....	17

## *Liste des tableaux*

---

<b>Tableau 0-1</b> Composition approximative du fruit de dattier .....	8
<b>Tableau 1-2</b> Composition approximative du noyau de la date.....	8
<b>Tableau 2-2</b> Gamme de préparation des dilutions.....	14
<b>Tableau 2-2</b> Série de la solution mère préparée pour étudier l'effet antibactérien des extraits de graines de datte .....	16



## *Sommaire*

### **INTRODUCTION**

1	<b>Le palmier dattier, et sous-produits</b> .....	4
1.1	Description botanique .....	4
1.2	Production, zones et rendements .....	5
1.2.1	Dans le monde .....	5
1.2.2	En Algérie .....	6
1.3	Applications pour promouvoir la santé et prévenir les maladies .....	7
1.3.1	Dattes et les graines comme source d'alimentation saine .....	7
1.4	Valorisation des graines de dattes usées pour la protection de l'environnement .....	9
1.4.1	Traitement des eaux .....	9
2	<b>Approche expérimentale</b> .....	11
2.1	Objectif du travail .....	11
2.2	Lieu de travail .....	11
2.3	Démarche expérimentale.....	12
2.4	Etude phytochimique .....	12
2.4.1	Préparation de la poudre des graines des dattes .....	12
2.4.2	Préparation des extraits des graines de dattes .....	13
a.	Extraction par macération .....	13
b.	Extraction par sonication.....	13
2.4.3	Dosage des polyphénols et des flavonoïdes .....	14
2.4.4	Préparation des dilutions de la solution mère .....	14
2.4.5	Dosage des polyphénols.....	14
2.4.6	Dosage des flavonoïdes.....	14
2.5	Etude microbiologique .....	15
2.5.1	Souches bactériennes utilisées et préparation des suspensions.....	15
2.5.2	Evaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait des graines de dattes.....	15
a.	Méthode de diffusion(disques).....	15
b.	Macrodilution .....	16
2.5.3	Pouvoir antibiofilm de l'extrait des graines de dattes.....	16
2.5.4	Analyses statistiques .....	17
2.6	Données de littérature portant sur la composition chimique, l'activité antibactérienne des graines de dattes .....	17
	<b>CONCLUSION</b> .....	20
	<b>Références bibliographiques</b> .....	21

## Introduction

---

Le souci grandissant quant au bien-être humain a engendré une demande en hausse pour les composés bioactifs, tels les métabolites secondaires des plantes, dont les polyphénols, aux propriétés bioactives multiples. La raison majeure pour cette préoccupation réside dans les applications courantes dans le secteur alimentaire, considérant ces biomolécules comme des éléments clés dans la fabrication de produits naturels destinés à améliorer la santé et le régime alimentaire de l'homme (Wakil, et al., 2019). En effet, grand nombre de plantes présentes dans notre alimentation quotidienne servent en toute sécurité et efficacité à prévenir et/ou à guérir des maladies et des troubles de santé, de manière sûre et efficace. Plusieurs recherche traitant divers aspects de dattier ont été publiés au fil des ans (Manickavasagan, et al., 2012). Récemment, ces recherches se sont concentrées sur les bienfaits des fruits et des sous-produits de cet arbre, et ont toutes confirmé ses vertus antibactériens, antioxydants, antifongiques et antiprolifératifs (Al-Mamary, et al., 2010; Benmeddour, et al., 2013; Nasir, et al., 2015; Alrajh, et al.,2019).

Le dattier étant reconnu comme plante prodigieuse, dont le fruit est traditionnellement consommé dans la région du Moyen-Orient, avec de nombreuses variétés, ayant chacune ses propres qualités. Citons parmi elles, le *Phoenix dactylifera*Linn (*Phoenix dactylifera L.*), une espèce largement cultivée, commercialisée et consommée. Cet arbre a environ une durée de vie de 80 ans, la plante femelle se reproduit à partir de l'âge de 15 ans (Manickavasagan, et al., 2012).

Il s'agit d'une espèce importante principalement cultivée dans les régions arides du monde, appartenant à la famille des Arecaceae, ou Palmae. Le dattier est une plante vivace et dioïque avec des plantes femelles et mâles poussant séparément, les premières portent des fruits, et les secondes du pollen. Cette plante occupe une place importante dans le quotidien des populations depuis 7000 ans.. Actuellement, sur le plan mondial, la production, la consommation et la transformation industrielle des dattes ne cessent de progresser étant donné que les dattes sont devenues incontournables dans l'alimentation humaine grâce à leur richesse en nutriments essentiels (Chandrasekaran&Bahkali, 2013). Le palmier-dattier a été domestiqué dès l'aube de l'agriculture, sa culture a bénéficié des nouvelles technologies, actuellement il est largement exploité par l'homme et est devenu un élément essentiel de

l'arboriculture mondiale (Johnson, et al.,2015)

La multiplication des micro-organismes présentant une résistance aux traitements médicamenteux et aux antibiotiques impose impérativement une modification de ces agents synthétiques pour limiter cette résistance. Les métabolites secondaires issus des plantes (palmier dattier) et de leurs fruits (dattes) ont déjà prouvé leurs effets antibactériens, toutefois, il y' peu d'études concernant l'aspect **valorisation** des graines (noyaux) de dattes. Cette étude avait pour principal objectif, la valorisation et l'évaluation *in vitro* de l'extrait aqueux des graines de dattes de la variété أزازرة.

Le présent manuscrit comporte deux segments, le premier est consacré à une synthèse de littérature, décrivant le palmier dattier, ses vertus technologiques, et thérapeutiques, le second donne un aperçu sur la démarche expérimentale, qui devrait être suivi, pour atteindre l'objectif et le présente en bref, par une discussion des résultats.

**PARTIE I**

**SYNTHESE**

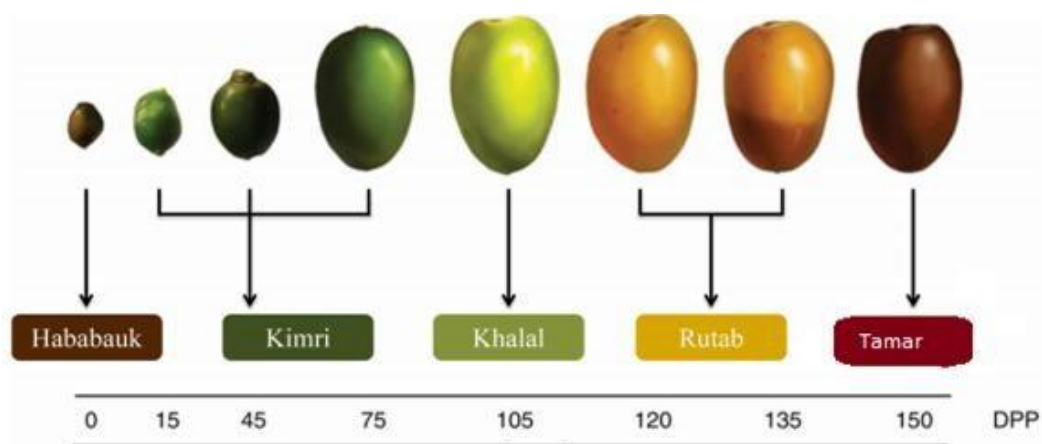
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **1LE PALMIER DATTIER, ET SOUS-PRODUITS**

### **1.1 Description botanique**

Le palmier-dattier constitue l'une des plus anciennes plantes, ayant un historique qui remonte à plus de 7 000 ans. C'est une plante monocotylédone, angiosperme faisant partie de la famille des Arecaceae (Palmaceae), qui inclut 200 genres (Dawson, 1982). Et plus de 2500 espèces (Ashraf, et al., 2011). Le genre *Phoenix* renferme 17 espèces de palmiers, dont, *canariensis*, *dactylifera*, *sabal*, *rupicola*, *reclinata*, etc (Kumar, et al., 2019). *Phoenix dactylifera* est l'une des premières plantes exploitées sur terre et est largement cultivée dans les climats chauds et secs d'Asie, du Moyen-Orient, d'Afrique et de la région de la péninsule arabique. Il représente pour les habitants de ces régions une nourriture considérable contribuant grandement dans leur quotidien (Muhammad, et al., 20015). Le palmier-dattier se propage selon deux techniques : la reproduction par graines et la reproduction par ramifications. Même si le premier mode est à la fois simple et rapide, toutefois, il est peu précis dans la mesure où aucun semis ne se ressemble (Al-Farsi, et al.,2011).

*Phoenix dactylifera*L. est le nom botanique du palmier-dattier, un membre important de la famille des Palmae . Au stade mature, il peut atteindre 30 m de hauteur (Johnson, et al., 2015). On compte plus de 2000 variétés de dattes dont la forme, la taille et le poids sont variables. Habituellement, leur forme est ovale, bien que certaines variétés puissent être presque rondes. Leur longueur varie de 1,8 à 11,0 cm, et leur largeur de 0,8 à 3,2 cm; avec un poids moyen de 2 à 60 g par fruit (Zaid, et al., 2002). La datte est composée d'un péricarpe et d'une graine. Le péricarpe, constitue entre 85 % et 90 % du poids du fruit (Hussein, et al., 1998). Pour arriver à maturation, le fruit passe par différents stades illustrés ci-dessous.



**Figure 1-1** Les cinq stades de maturation des dattes (Al-Alawi, 2017)

Les graines de dattes, aussi appelées pierres ou noyaux, forme un élément constitutif du fruit intégral, elles représentent entre 10 et 15 % du poids de la dattes, suivant la variété et la qualité (Hussein, et al., 1998). Environ 825 000 tonnes de graines de dattes sont produit chaque année, ce sous-produit renferme de précieux composés bioactifs et, est très utile dans le secteur des dattes (Al-Farsi, et al., 2011). Les caractéristiques des graines, tout comme celles du fruit, dépendent fortement de la variété, l'environnement et les conditions de croissance. Leur poids est de 0,5 g à 4 g, quant à la longueur et la largeur, elles sont généralement comprises entre 1,2 à 3,6 cm, et 0,6 à 1,3 cm respectivement. Généralement sous forme oblongue, striée en son centre, comportant un petit embryon, avec la présence d'un endosperme fait d'un dépôt de cellulose sur la face interne des parois cellulaires (Zaid, et al., 2002). Les graines de dattes sont le plus souvent rejetées, la pratique la plus courante consiste à les utiliser dans l'alimentation animale (bovins, moutons, les chameaux et la volaille) (Al-Farsi, et al.,2011).

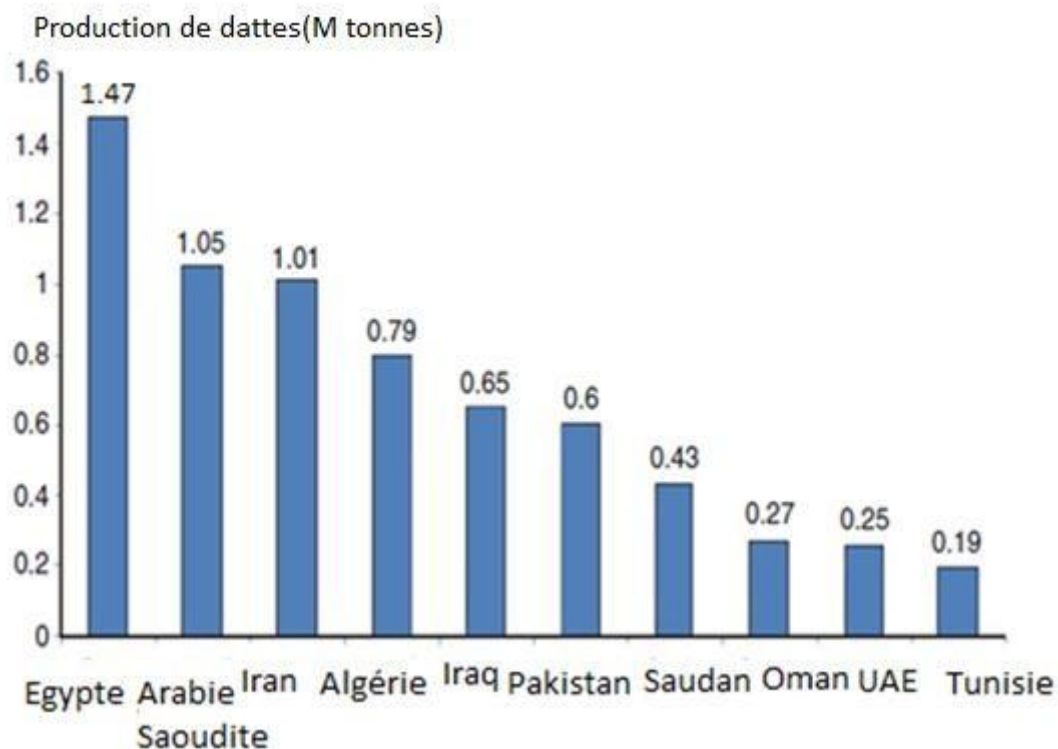
## 1.2 Production, zones et rendements

### 1.2.1 Dans le monde

La récolte est très variable, de 20 à 100 kg par arbre adulte, elle dépend du cultivar, des conditions environnementales et des pratiques de culture (Johnson, et al., 2015). Le Moyen- Orient et l'Afrique du Nord étant les zones de production majeures des dattes, les palmiers dattiers ont également été implantés en Australie, en Inde, au Mexique, en Afrique du Sud, en Amérique du Sud, au Pakistan et aux États-Unis ces 30 dernières années. Dans beaucoup de régions, non seulement les dattes sont un aliment de base apprécié par la population locale, mais, leur production apporte aussi une importante contribution à

l'économie, à la vie sociale et à l'environnement (Chao, et al., 2007).

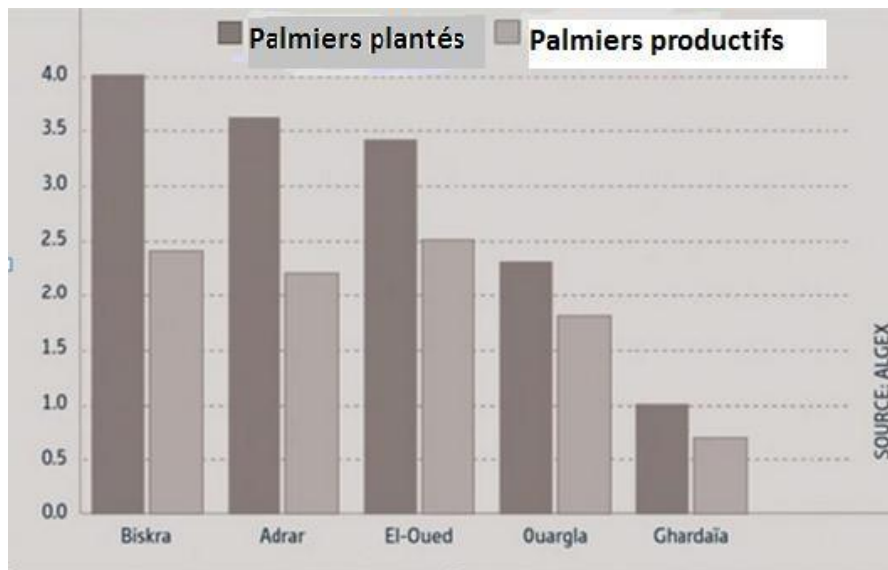
Selon la FAO (FAO STAT, 2012). La production de dattes est en progression (**Figure 1-2**). Quant à l'Algérie, la production annuelle est de plus de 400 000 tonnes, avec plus de 400 variétés différentes de dattes (Chandrasekaran, et al.,2012).



**Figure 1-2** Production de dattes (millions de tonnes) dans les dix premiers pays producteurs en 2012 (Source: FAOSTAT 2012 )

### 1.2.2 En Algérie

Un total de 43 millions de dollars de produits agricoles a été exporté en 2007 en Algérie, dont les dattes occupent le premier rang des produits d'exportation. ; Les exportations globales algériennes de ce fruit, ont atteint en 2007 environ 20 millions de dollars, étant donné que les palmiers dattiers sont plantés dans neuf wilayas sahariennes, notamment celles de Biskra, Adrar, El-oued, Ourgla et Ghardaia (Figure 1-3.). Le dattier offre en effet une impressionnante source de revenus pour les wilayas du sud du pays et constitue bien souvent l'unique source de revenus des familles (Oxford Business Group, 2008).



**Figure 1-3** Zones de production des dattes en Algérie

### **1.3 Applications pour promouvoir la santé et prévenir les maladies**

Des études épidémiologiques ont lié la consommation élevée de fruits et légumes, à la réduction de plusieurs maladies (cardiovasculaires, cancers, athérosclérose, et maladies neurodégénératives) associée à un risque réduit de plusieurs maladies chroniques, telles que les maladies coronariennes, cela a été expliqué, par le fait que ces aliments peuvent apporter un mélange optimal de substances phytochimiques comme les fibres alimentaires, les antioxydants naturels ( vitamines C, E, bêta-carotène,), et des composés phénoliques. Il a même été confirmé que la peau et les pépins de certains fruits, y compris, les graines de dattes, ont une activité antioxydante supérieure à celle de la pulpe (Al-Farsi, et al.,2011)

#### **1.3.1 Les dattes et les graines comme source d'alimentation saine**

Les plantes servent de source naturelle de nutriments pour les humains et les animaux. Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) est connu par son fruit à goût sucré (environ 70 %), Outre leur richesse en nutriment (tableau 1-1), leur goût caramélisé et leur texture fine et moelleuse, il est intéressant de constater que les dattes, sont normalement qualifiées de "plaisir naturel" Certes, elles sont autant sucrées que les confiseries, mais elles apportent beaucoup plus de compléments et d'avantages thérapeutiques (Farag, 2016; Kumar, et al., 2019).



**Tableau 1-1** Composition approximative du fruit de dattier (Kumar, et al., 2019)

<u>Constituent</u>	<u>Quantité(%)</u>
Carbohydrates	44-88
Sucres	60-80
Gras	0,2-0,4
Protéines fibres	2,3-5,6 6,4-11,5

Les graines générées comme déchets lors de la transformation des dattes étaient auparavant, destinées à l'alimentation des animaux ou comme fertilisants, étant donné qu'elles sont riches en huile, protéines, minéraux et fibres (tableau 1-2), et faute de recherches suffisantes sur ces derniers. Aujourd'hui, grâce à des recherches scientifiques poussées sur les dattes et leurs dérivés, un large éventail d'applications est possible, en cosmétologie, pharmacologie, ou même en agroalimentaire pour la fabrication de barquettes de granola, nourrissantes susceptibles d'être une source précieuse de fibres alimentaires, d'antioxydants et d'autres nutriments (Kumar, et al., 2019). D'ailleurs, les fibres alimentaires du noyau de datte lui confèrent une valeur nutritive élevée, ce qui le rend idéal pour une utilisation dans les aliments fibreux et diététiques (Ashraf, et al.,2011).

**Tableau 1-2** Composition approximative du noyau de la date (Ashraf, et al., 2011)

<u>Constituent</u>	<u>Quantité (%)</u>
Eau	7-10
Protéine	5-7
Gras	7-10
Fibre brute	10-24
Glucides	55-70
Cendres	1-2

D'autre part, l'huile extraites des graines de dattes est connue par sa stabilité à l'oxydation grâce à sa teneur élevée en composés phénoliques, et peut constituer un ingrédient incontournable pour certaines préparations cosmétiques et pharmaceutiques (crèmes solaires) (Al-Farsi,2011).

Les substances phytochimiques sont des éléments bioactifs non nutritifs chargés surtout de piéger les radicaux libres toxiques via la création d'antioxydants à la suite d'un stress oxydatif, lequel est le facteur principal à l'origine des maladies chroniques (Al-Harrasi,

et al., 2014).

En plus de la valeur nutritionnelle, les graines de dattes constituent en outre une source en substances phénoliques et antioxydantes, dont la teneur varie entre 3102 et 4430 mg d'équivalent acide gallique/100g, et 58000 et 92900 mmol d'équivalent Trolox/100 g, respectivement (Al-Farsi, et al., 2011). D'autre part, l'huile des graines de dattes, constituent est riche en contenu phénolique (21-62 mg d'acide gallique), comparées à d'autres huiles alimentaires (huile d'olive) (Ahmad, et al.,2019).

## **1.4 Valorisation des graines de dattes usées pour la protection de l'environnement**

### **1.4.1 Traitement des eaux**

Les noyaux de dattes, principalement considérées comme des déchets alimentaires, ont la capacité d'adsorber efficacement des polluants hautement toxiques (les métaux, les colorants et les acides), dont la dégradation biologique est très délicate dans la nature, et qui font peser un risque majeur sur l'environnement. Une telle eau traitée peut être recyclée dans d'autres applications domestiques, contribuant à la durabilité des ressources en eau et à la protection de l'environnement (Kumar, et al.,2019).

**PARTIE II**

**PARTIE**

**EXPERIMENTALE**

## **2 APPROCHE EXPERIMENTALE**

Ce chapitre présente la méthodologie adoptée et les protocoles requis.

### **2.1 Objectif du travail**

La présente étude avait pour objectif principal, la valorisation des gaines de dattes « noyaux », à travers l'évaluation de leur potentiel antibactérien et antibiofilm. A cette fin, plusieurs buts spécifiques ont été fixés.

- ✚ Préparation de l'extrait des noyaux de dattes, par deux méthodes, la macération (classique), et la sonication (alternative), et détermination des teneurs de polyphénols et de flavonoïdes;
- ✚ Caractérisation chromatographique de l'extrait des noyaux de dattes, et identification quantitative de sa composition;
- ✚ Détermination de la CMI de la croissance par macrodilution, et classification de l'extrait aqueux selon l'effet vis-à-vis de deux souches bactériennes;
- ✚ Détermination de la CMIB

### **2.2 Lieu de travail**

L'expérimentation a été entamée le 01/03/2020 dans le laboratoire de Biochimie (faculté des sciences de la nature et de la vie), et le laboratoire de recherche « Amélioration de productions animales, et produits de la ruche », de l'université de Tiaret. L'expérimentation n'a duré que 3 semaines, et le travail a été interrompu à cause de la situation sanitaire.

## 2.3 Démarche expérimentale

Les étapes de l'expérimentation devraient être les suivantes.

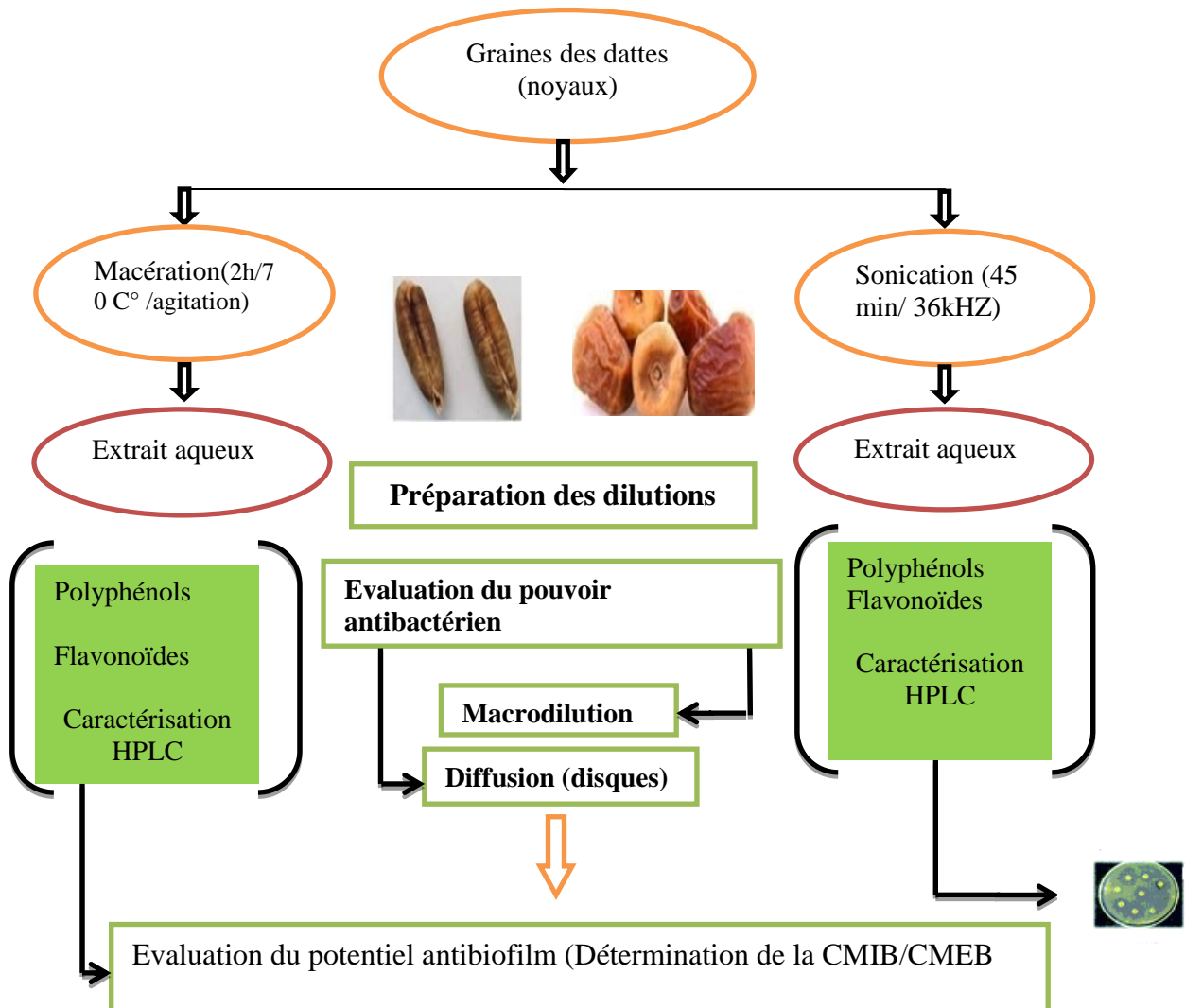


Figure 2-1 Etapes de l'expérimentation

## 2.4 Etude phytochimique

### 2.4.1 Préparation de la poudre des graines des dattes

Les graines de dattes de la variété Azazra (اززرة) achetées du marché local de la wilaya de Ghardaïa en mois de Décembre 2019, ont été lavées dans de l'eau plusieurs fois, puis ont été séchées près d'un chauffage. Pour obtenir une poudre fine à diamètre défini, les graines ont été broyées manuellement, en utilisant un mortier traditionnel en pierre, la poudre hétérogène obtenue, a été tamisée (0,2mm), elle a été conservée au froid, jusqu'à utilisation ultérieure.



**Figure 2-2** Échantillons des dattes, des noyaux et poudre obtenue

## 2.4.2 Préparation des extraits des graines de dattes

En vue d'optimiser l'extraction, deux méthodes ont été adoptées, la macération et l'extraction sous ondes ultrasoniques (sonication).

### a. Extraction par macération

5 g de poudre fine des noyaux de dattes ont été macérés pendant 2 h dans 100 ml d'eau distillée, sous agitation, à 70C°, le mélange a été filtré (papier filtre Watman). La poudre retenue par le papier a été macérée une seconde fois dans les mêmes conditions (Boubakeur& al, 2016).

### b. Extraction par sonication

Le protocole de Loui et al (2017) a été adopté avec quelques modifications. 5 g de poudre fine des noyaux de dattes ont été macérés pendant 45min dans 100 mL d'eau distillée, le mélange a été placé dans un sonicateur (SONOREX TK 52, 35kHz), durant 45 min, puis a été filtré, et la poudre retenue a subit un deuxième cycle d'extraction dans les mêmes conditions (Yong, et al.,2017).

Le filtrat obtenus lors des deux extractions a subit une évaporation et un séchage à 45 C° dans une étuve ventilée. Le rendement d'extraction a été calculé en utilisant cette formule :

$$Rdm \text{ d'extraction } (\%) = \frac{\text{Poids du residus d'extraction}}{\text{Poids de la poudre}} \times 100$$

Le résidu d'extraction obtenu (désigné solution mère) a été reconstitué dans l'eau distillée, puis conservé au froid.

### 2.4.3 Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

#### 2.4.4 Préparation des dilutions de la solution mère

Des dilutions de la solution mère (SM) ont été préparées en ajoutant de l'eau distillée. Brièvement, une série de tube à essai a été rempli d'eau distillée à des volumes croissants, puis dans chaque tube, un volume de SM a été incorporé pour avoir au final des dilutions de (1/5, 1/10, 1/100), ce qui correspond aux concentrations suivantes (0.032, 0.016, 0.0016 g/mL), le mélange a été homogénéisé et conservé au froid.

**Tableau 2-1** Gamme de préparation des différentes dilutions

Dilution	H <sub>2</sub> O (mL)	SM (mL)	Volume totale (mL)
1/5	4	1	5
1/10	9	1	10
1/100	99	1	100

#### 2.4.5 Dosage des polyphénols

Brièvement, 100µL de la SM et de ses dilutions ont été mélangé avec 500µL du réactif FolinCiocalteu (dilué à 1/10<sup>ème</sup>), puis 1000 µL d'eau distillée sont ajoutés à ce mélange. Après incubation d'une minute, 1500 µL d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (20%) ont été ajoutés. Le tout a été incubé à l'obscurité pendant 2 h. L'absorbance a été lue à 760 nm contre un blanc (témoin négatif/ sans extrait) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Les résultats sont exprimés par la suite en mg/équivalent d'acide gallique/g d'extrait (mg EQ AG/g Ext) (Djeridane& al, 2006), en utilisant l'équation suivante (courbe d'étalonnage).

$$Y = 2.61964 X + 0,022$$

#### 2.4.6 Dosage des flavonoïdes

Brièvement, à 2 mL de la SM et de ses dilutions, ont été ajouté 3 mL d'une solution d'AlCl<sub>3</sub>(2%), après agitation, incubé à l'obscurité à température ambiante. Les changements colorimétriques sont déterminés ensuite à 430 nm. Les résultats sont exprimés en mg/équivalent de quercitine /g d'extrait (mg EQ Qer/g Ex)(Djeridane& al, 2006).L'équation de la courbe d'étalonnage est  $y = 2,6801x + 0,0127$ .

**NB :** Il est à noter que l'extrait utilisé pour les différents tests microbiologiques est celui dont

la teneur en substances actives est meilleure.

## **2.5 Etude microbiologique**

### **2.5.1 Souches bactériennes utilisées et préparation des suspensions**

Deux souches bactériennes ont été testées dans cette étude, *Escherichia coli* (ATCC 10536) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922). Elles devraient être apportées de l'institut vétérinaire de l'université de Tiaret. L'étape de vérification de leur pureté est nécessaire, avant d'entamer l'expérimentation. Au début, les suspensions conservées préalablement au froid, devraient être activées en plaçant les tubes devant un bec Bunsen un petit moment. Leur pureté à vérifier par observation sous microscope photonique, et par culture sur gélose appropriée (aspect des colonies) ; une colonie bien distincte, devrait être repiquée par la suite sur un milieu neuf, ce qui permet par la suite de préparer des aliquotes, par inoculation d'un bouillant stérile, incubation puis conservation à température positive. L'ajustement de la charge bactérienne devrait être réalisé à l'échelle 0.5 Mac Farland, une suspension à densité optique de 0.08-0.13, correspond à une charge bactérienne de  $10^7$ - $10^8$  (Andrews, et al.,2009).

### **2.5.2 Evaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait des graines de dattes**

#### **a. Méthode de diffusion (disques)**

Brièvement, des disques stériles de 6 mm imprégnés de concentrations croissantes (0.032, 0.016, 0.0016 g/mL) d'extrait de datte, stérilisé préalablement par membrane filtrante  $0.45\mu\text{m}$ , ont été appliqués sur une gélose inoculée par 0.5 mL de suspension bactérienne (*S. aureus*, *E. coli*) à  $10^6$  UFC/mL, des disques, sans extrait et de gentamicine servaient de contrôle négatif et positif respectivement. Après incubation de 24 h, les diamètres d'inhibition ont été calculés (Celiktas& al, 2007).En fonction du diamètre de la zone d'inhibition, l'activité antibactérienne peut être rangée en quatre catégories (Alrajh, et al.,2019).

✚ $\leq 10$  mm correspond à une activité faible.

✚ $>10$  à 15 mm correspond à une activité modérée. ✚ $>15$  à 20 mm correspond à une activité forte.

✚ $>20$  mm correspond à une activité extrêmement forte



## b. Macrodilution

Une série de tubes contenant chacun un volume total de 10 mL a été préparée (Tableau 2). Chaque tube a été inoculé par 100  $\mu\text{L}$  d'une suspension bactérienne (*S. aureus*/ *E. coli*) à  $10^7$  UFC/mL, un volume d'extrait des graines de dattes et un volume d'eau distillée. Ils ont été ensuite incubés à  $37\text{C}^\circ/24\text{h}$ . Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) ont été déterminées.

**Tableau 2-2** Série de dilution de la solution mère préparée pour étudier l'effet antibactérien des extraits de graines de datte.

Solution mère (extrait des graines de datte)(mL)	Suspension bactérienne $\mu\text{L}$ ( $10^7$ CFU/mL)	Eau distillée (mL)	Volume totale (mL)
10 (contrôle positif)	-	-	-
1	100	8.9	10
2	100	7.9	10
3	100	6.9	10
4	100	5.9	10
5	100	4.9	10

### 2.5.3 Pouvoir antibiofilm de l'extrait des graines de dattes

La détermination de la concentration inhibitrice/ et ou éradicatrice de biofilm (CMIB, CMEB) a été faite sur la même série de tube utilisée pour déterminer les CMI<sub>s</sub> et CMB<sub>s</sub> lors de la macrodilution. Brièvement, après avoir éliminé la suspension bactérienne (cellules libres) et le milieu de culture, les tubes ont été rincés puis colorés par le cristal violet (CV), incubés à température ambiante pendant 30 min, puis ont été lavés avec de l'eau distillée stérile. Le CV

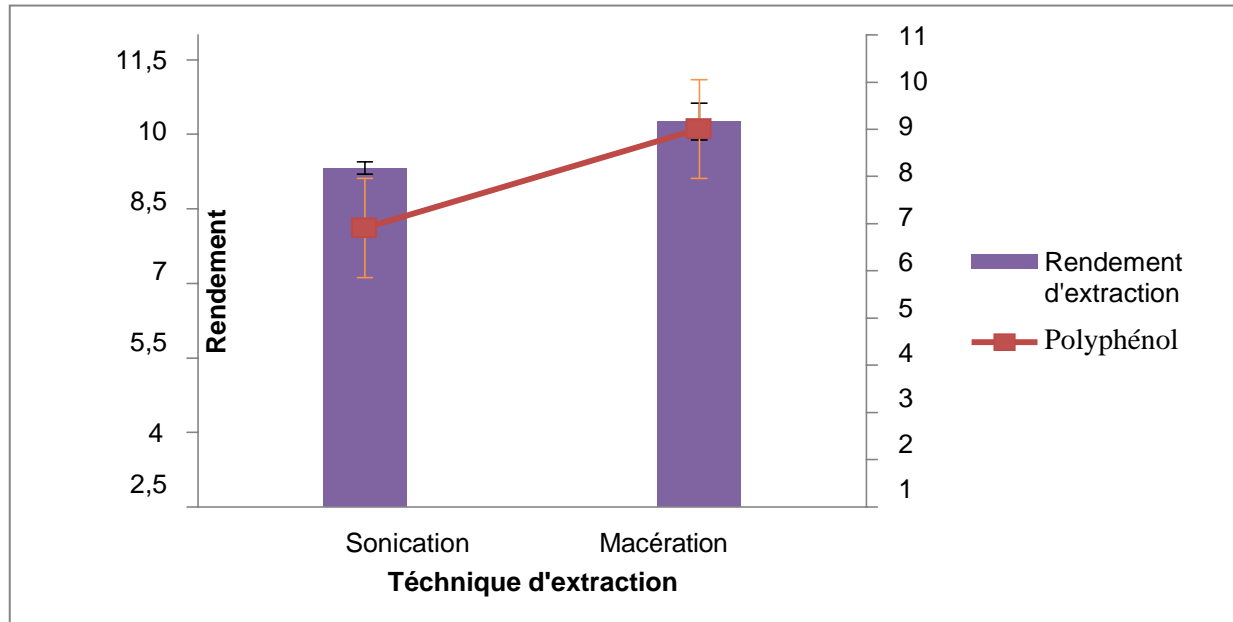
lié au biofilm a été solubilisé dans de l'acide acétique à 30 %, la biomasse sessile a été mesurée à 550 nm (O'Toole,2011).

#### 2.5.4 Analyses statistiques

Les tests ont été réalisés en triplicata, tous les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$ écart type.

#### 2.6 Données de littérature portant sur la composition chimique, l'activité antibactérienne des graines de dattes

La figure ci-après, indique les rendements d'extraction (RE %) des graines de dattes en appliquant les deux méthodes macération et sonication. Les RE% étaient différents pour les deux techniques, allant de  $9\pm 0.1\%$  à  $10\pm 0.3\%$ , pour la sonication et la macération respectivement. L'extrait de la macération était plus riche en substances phénoliques, en comparaison à celui obtenu par sonication  $7\pm 2.22$  contre  $9\pm 1.23$  mg Eq AG/ g d'extrait. Ce test nécessitait une répétition pour confirmer les différences de valeurs obtenues. De ce fait il est impossible ici de prédire la méthode, la plus idéale et ou efficace pour l'extraction des composés phénoliques.



**Figure 2-3** Rendement d'extraction et teneur en polyphénols

De nombreuses études avaient pour objectif la valorisation des déchets issus des dattes (Hussein, et al., 1998; Nabili, et al., 2016), certaines de ces ont étudié l'activité biologique de ces extraits des noyaux de dattes (Al-Farsi, et al., 2008; Al-Mamary, et al., 2010; Al-Harrasi,

et al., 2014; Al-Alawi, 2017). Metoui et al (2019), ont montré dans leur étude réalisée sur 11 cultivars, que la teneur des graines en polyphénols varie de 5,224 g/100g à 9.532 g/100 g. Selon (Ammar, et al., 2010) , ont signalé , en outre, que le solvant affecte significativement la teneurs en polyphénols des graines de dattes, l'éthanol était le plus idéal, par rapport à l'eau. La graine de datte peut être considérée comme une source riche en composés phénoliques, par rapport à la chair de datte (El-Rahman, et al.,2017).

Il est remarquable, que la teneur en substances phénoliques diffère d'une étude à l'autre. Cette différence est due à plusieurs facteurs tels que la variété, les conditions de culture, le degré de maturité, la saison, l'origine géographique, l'engrais, le type de sol, les conditions de stockage, la quantité de lumière solaire reçue, les méthodes de culture, les conditions de traitement et de stabilisation, le recours à différentes méthodes d'analyse et l'utilisation de standards phénoliques différents (Metoui, et al., 2019).

D'autre part, les extraits des graines de dattes ont prouvé leur effet antibactérien (El-Rahman, et al., 2017; Metoui, et al., 2019).

Comme pour les extraits de dattes, ayant une activité antibactérienne potentielle contre de nombreux pathogènes à Gram positif et négatif, comme montré par Alrajh et al (2019), les extraits des graines de dattes ont prouvé aussi leur effet antibactérien (El-Rahman, et al., 2017; Metoui, et al., 2019; Alrajh, et al., 2019). Globalement, l'action antibactérienne du des dattes et de ses graines est attribuée à ses éléments phytochimiques dont les phénols, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tanins (Alrajh, et al.,2019).

# CONCLUSION

## 2.7 CONCLUSION

La culture du dattier est une des plus importantes cultures arboricoles dans plusieurs parties du monde caractérisées par leur climat aride à haute température. D'après la littérature, le palmier dattier représente une importante source de nourriture et ses sous-produits servent à produire toute une série d'articles, allant de la construction aux vêtements. Ainsi, le dattier est idéal à cultiver dans les pays à faible revenus. Par ailleurs, il a été montré que l'introduction des graines de dattes dans le régime alimentaire améliore certaines performances, ceci laisse supposer que ce sous-produit peut remplacer, surtout dans les pays où les palmiers sont abondants, les autres régimes alimentaires, la plus part de temps très coûteux.

Les dattes et leurs sous-produits, particulièrement, les graines ont de nombreuses applications surtout dans le secteur agroalimentaire. Si les graines sont destinées à l'alimentation animale, la pâte des peut remplacer, la farine de blé lors de la fabrication du pain et des biscuits. De même pour le sirop des dattes, qu'il est possible de remplacer le sucre de canne dans les gâteaux, offrant ainsi un nouvel ingrédient pour la préparation des aliments fonctionnels.

Pour conclure, il est possible d'ouvrir de nouvelles perspectives d'utilisation des sous- produits du palmier dattier, cela impose les perspectives suivantes :

- ✓ La continuité du travail expérimental;
- ✓ La valorisation d'autres variétés de dattes, ainsi de leurs graines;
- ✓ Identification précises des substances phytochimiques des extraits des graines de dattes.....

## 2.8 Références bibliographiques

- Al-Mamary, M., Al-Habori, M., & Al-Zubairi, A. S. (2014). The in vitro antioxidant activity of different types of palm dates (*Phoenix dactylifera*) syrups. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6),964-971
- ALrajhi, M., AL-Rasheedi, M., Eltom, S. E. M., Alhazmi, Y., Mustafa, M. M., & Ali, A. M. (2019). Antibacterial activity of date palm cake extracts (*Phoenix dactylifera*). *Cogent Food & Agriculture*, 5(1),1625479.
- Al-Farsi,M.,&Lee,C.Y.(2011).Dateseeds:Usageofdateseedextractinhealth. *Nuts and Seeds in Health and Disease*, 447-452.
- Al-Alawi, R. A., Al-Mashiqri, J. H., Al-Nadabi, J. S., Al-Shihi, B. I., &Baqi, Y. (2017). Date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.): natural products and therapeutic options. *Frontiers in plant science*, 8, 845.
- Ashraf, Z., &Hamidi-Esfahani, Z. (2011). Date and date processing: a review. *Food reviews international*, 27(2),101-133.
- Al-Harrasi, A., Rehman, N. U., Hussain, J., Khan, A. L., Al-Rawahi, A., Gilani, S. A., ... & Ali, L. (2014). Nutritional assessment and antioxidant analysis of 22 date palm (*Phoenix dactylifera*) varieties growing in Sultanate of Oman. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7,S591-S598.
- Ahmad, A., &Imtiaz, H. (2019). Chemical Composition of Date Pits: Potential to Extract and Characterize the Lipid Fraction. In *Sustainable Agriculture Reviews 34* (pp. 55-77). Springer,Cham
- Andrews, G. P., Laverty, T. P., & Jones, D. S. (2009). Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 71(3),505-518.
- l-Farsi, M. A., & Lee, C. Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108(3),977-985.
- Ammar, A. S., &Habiba, R. A. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of date seeds. *J AgricVetSciQassimUniv*, 3,3-8.
- Benmeddour, Z., Mehinagic, E., Le Meurlay, D., &Louaileche, H. (2013). Phenolic composition and antioxidant capacities of ten Algerian date (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars:

a comparative study. *Journal of Functional Foods*, 5(1),346-354.

- Boubakeur, B., Tirtouil, A., Khadem, H., Meddah, B., & Ahcen, S. (2016). An assessment of the effect of aqueous extract from *Thymus fontanesii* on growth, aggregation and biofilm formation of pathogenic and probiotic bacteria. *J Appl Environ Bio Sci*, 6(7),51-60.
- Chandrasekaran, M., & Bahkali, A. H. (2013). Valorization of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit processing by-products and wastes using bioprocess technology– Review. *Saudi journal of biological sciences*, 20(2),105-120.
- Chao, C. T., & Krueger, R. R. (2007). The date palm (*Phoenix dactylifera* L.): overview of biology, uses, and cultivation. *HortScience*, 42(5),1077-1082.
- El-Rahman, S. N. A., & Al-Mulhem, S. I. (2017). Characteristic analysis, antioxidant components and antioxidant activity of date fruits, Date Seeds and palm shell. *Clin Med Case Rep*, 1(1),1-5.
- Farag, K. M. (2016). Date palm, A Wealth of Healthy Food. Encyclopedia of Food and Health (FOHE). Chapter, 00215.
- Johnson, D. V., Al-Khayri, J. M., & Jain, S. M. (2015). Introduction: Date production status and prospects in Asia and Europe. In *Date palm genetic resources and utilization* (pp. 1-16). Springer, Dordrecht.
- Hussein, A. S., Alhadrami, G. A., & Khalil, Y. H. (1998). The use of dates and date pits in broiler starter and finisher diets. *Bioresource Technology*, 66(3),219-223.
- Kumar, P. S., & Yaashikaa, P. R. (2019). Date Palm as a Healthy Food. In *Sustainable Agriculture Reviews 34* (pp. 1-17). Springer, Cham.
- Metoui, M., Essid, A., Bouzoumita, A., & Ferchichi, A. (2019). Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activity of Tunisian Date Palm Seed. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(1).
- Manickavasagan, A., Essa, M. M., & Sukumar, E. (Eds.). (2012). *Dates: production, processing, food, and medicinal values*. CRC Press.
- Nasir, M. U., Hussain, S., Jabbar, S., Rashid, F., Khalid, N., & Mehmood, A. (2015). A review on the nutritional content, functional properties and medicinal potential of dates. *Sci. Lett*, 3(1),17-22.
- Nabili, A., Fattoum, A., Passas, R. A. P. H. A. Ę. L., & Elaloui, E. L. I. M. A. M. E. (2016).

Extraction and characterization of cellulose from date palm seeds (*Phoenix dactylifera* L.).  
*Cellulose Chemistry and Technology*, 50,9-10.

- O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (47),e2437.
- Zaid, A., & Arias-Jimenez, E. J. (2002). Date Palm Cultivation, FAO Plant Production and Protection Paper. *Rev. 1,156*.