

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



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :  
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre  
Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**LICENCE**

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Biologie

**Spécialité :** Biochimie

**Thème**

**Évaluation du pouvoir antioxydant des  
extraits phénoliques de *Phoenix dactylifera* L.  
(variété Ghars)**

**Par :**

MOUKHTAR  
MOUHAMED SIDIMO  
OUAISSA

Lediba  
Dahba  
Abderahmane

**Jury :**

**M. BENSANIA Wafa**

Maître Assistant B

Univ. Ghardaïa

**Encadreur**

**M. BELGHIT Said**

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

**Examineur**

**Année universitaire 2013/2014**

---

---

## **Remerciements**

---

---

*Avant tout, nos gratitude et profonds remerciements à notre dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour arriver là où nous somme aujourd'hui*

*Nos plus vifs remerciements à notre promoteur Melle. BENSANIA Wafa, Maître assistante de département de Biologie à l'Université de Ghardaïa, pour sa patience durant la réalisation de ce travail, son aide et ces précieux conseils tout au long de ce travail.*

*Nos grandes remerciements s'adressent au Monsieur BELGHIT Saïd Maitre assistant à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Ghardaïa, pour l'honneur qu'elle nous fait de présider d'examiner ce mémoire.*

*Nous sommes particulièrement redevables à Monsieur BENBRAHIM Faouzi, chef de département de Biologie, pour sa bienveillance et ces conseils.*

*Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à tous nos enseignants des différents niveaux d'étude qui nous ont formé.*

*Nous souhaitant adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide les gents de laboratoire de chimie pour contribué à élaborer ce mémoire.*

*A toute la promotion de licence «Biochimie », année2013-2014.*

*Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

---

*Dédicace*

---

*A nos chers parents*

*A nos frères et nos sœurs pour leurs confiances*

*A nos oncles et tantes et cousins et cousines*

*A tout la tribu Rgibi et dakhil*

*A tout mes amies d'étude à l'université de Ghardaïa*

*A tous le peuple saharien*

*A tous le peuple Algérien pour leurs chaleureux accueil*

*Ladiba et Dahba*

---

*Dédicace*

---

*À ma grand mère actuellement hospitalisé*

*À la mémoire de mon grand père qui a pris le devoir de me élevé*

*À mes chers parents*

*À tout mes frère et toutes mes sœurs*

*À mes amies pour leurs soutien pendant mes études*

*À ma petite famille*

*Abdou*

## ملخص

تعتبر دراسة المركبات الفينولية للنباتات موضوع ذو أهمية علمية، لما تحتويه من مركبات فعالة ذات نشاط بيولوجي. نهتم في هذا العمل بدراسة المستخلصات الفينولية لبعض الأعضاء المكونة للنخلة *Phoenix dactylifera L.* و بالتحديد نوع الغرس كما ندرس أيضا خصائصها المضادة للأكسدة.

تراوحت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية بين 0.0120 و 3.4733 مغ/غ مكافئ حمض الغاليك بينما تراوحت كمية الفلافونويدات بين 0.0026 و 0.9789 مغ/غ مكافئ الروتين.

أما عن دراستنا لخاصية المضادة للأكسدة من خلال مسح جذور DPPH\* فقد أثبتت النتائج أن أغلبية المستخلصات الممتحنة تملك فعالية جيدة خاصة مستخلص التمر، حيث تراوحت قيم  $EC_{50}$  بين 19.81 و 2460.62 ميكروغ/مل. كما أكدت هذه الدراسة الارتباط الجيد بين المحتوى الفينولي للمستخلصات المدروسة و خاصية المضادة للأكسدة.

تشجعنا هذه النتائج على تعميق البحث و هذا بفصل الجزيئات المسؤولة على النشاطات المدروسة بهدف استعمالها في المجال الصيدلاني.

**الكلمات المفتاحية:** المركبات الفينولية ، الفلافونويدات ، الفعالية المضادة للأكسدة ، *Phoenix dactylifera L.*, DPPH\*

## **Résumé**

Les composés phénoliques sont des molécules bioactives, qui présentent un sujet d'intérêt scientifique grâce à leurs activités biologiques. Dans ce travail nous nous sommes intéressés aux extraits phénoliques de différents constituants de *Phoenix dactylifera* L., variété Ghars, et à l'étude de leur activité antioxydante *in vitro*.

Le contenu en phénols totaux est compris entre 0.0120 à 3.4733 mg/g en équivalent d'acide gallique. Tandis que le contenu en flavonoïdes exprimé en équivalent de la rutine par gramme de la matière sèche est compris entre 0.0026 à 0.9789 mg/g.

L'étude de l'activité antioxydante par un balayage du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, DPPH<sup>•</sup>. Les résultats de ce test ont montré une activité antioxydante intéressante chez la plus part des extraits testés avec des valeurs d'EC<sub>50</sub> comprise entre 19.81 et 2460.62 µg/ml, dont l'extrait des dattes pour les deux fractions a montré un pouvoir antioxydant le plus important par rapport les autres extraits. De même, nous avons constaté une bonne corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anioxydante de nos extraits.

Les résultats obtenus, nous encouragent d'approfondir les recherches afin d'isoler les molécules responsables aux activités étudiées en vue de les utiliser dans des applications pharmacologiques.

**Mots clés** : composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante, *Phoenix dactylifera* L., DPPH<sup>•</sup>.

## ***Abstract***

Phenolic compounds are bioactive molecules exhibiting a lot of scientific attention due to their multiple biological activities. In this study we are interested in phenolic extracts the different part of *Phoenix dactylifera* L., variety Ghars, and in vitro study of their antioxidant.

The total phenolic content was ranged between 0.0120 and 3.4733 mg equivalent on gallic acid per gram of dry matter. Whereas, the flavonoid content expressed as rutin equivalent per gram of dry matter was ranged between 0.0026 and 0.9789 mg / g.

The study of antioxidant activity by scavenging the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH<sup>•</sup>. The results of this test showed an interesting antioxidant activity in most of the samples tested with EC<sub>50</sub> values in the range of 19.81 and 2460.62 µg/ml, whose date extract exposed the strongest antioxidant power. Similarly, we have found a good correlation between the phenolic content and the antioxidant activity of our extracts

The obtained results, we encourage further research to isolate the active molecules for use in pharmaceutical applications.

**Keywords:** Phenolic compounds, flavonoid, antioxidant activity, *Phoenix dactylifera* L., DPPH<sup>•</sup>.

<b>AlCl<sub>3</sub></b>	:	Chlorure d'aluminium.
<b>CLHP</b>	:	Chromatographie liquide à haute performance.
<b>DPPH<sup>·</sup></b>	:	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
<b>EC<sub>50</sub></b>	:	Efficience concentration
<b>ER</b>	:	Equivalent à la rutine.
<b>ERO</b>	:	Espèces réactives de l'oxygène
<b>EAG</b>	:	Equivalent Acide Gallique
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	:	Carbonate de sodium
<b>R<sup>2</sup></b>	:	Coefficient de corrélation.



<b>Figure 1</b>	: Les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés.	<b>4</b>
<b>Figure 2</b>	: Les principales activités biologiques des composés phénoliques.	<b>6</b>
<b>Figure 3</b>	: Squelette de base des flavonoïdes.	<b>7</b>
<b>Figure 4</b>	: Biosynthèse des principales familles des flavonoïdes.	<b>8</b>
<b>Figure 5</b>	: La phase de déclenchement.	<b>11</b>
<b>Figure 6</b>	: La phase de propagation.	<b>11</b>
<b>Figure 7</b>	: Déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les ERO in vivo.	<b>12</b>
<b>Figure 8</b>	: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.	<b>15</b>
<b>Figure 9</b>	: Structure des différentes parties de palmier dattier (A), structure des différentes parties de palme d'un palmier dattier adulte (B) et disposition des dattes sur le pédicelle (C).	<b>17</b>
<b>Figure 10</b>	: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	<b>20</b>
<b>Figure 11</b>	: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	<b>21</b>
<b>Figure 12</b>	: Réduction de radical libre DPPH <sup>•</sup> en présence d'antioxydant.	<b>22</b>
<b>Figure 13</b>	: Pourcentages des phénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait brut.	<b>26</b>
<b>Figure 14</b>	: Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux dans la fraction d'acétate d'éthyle et di-éthyle éther.	<b>27</b>
<b>Figure 15</b>	: Les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration des extraits phénoliques.	<b>29</b>
<b>Figure 16</b>	: Variation des valeurs d'EC <sub>50</sub> en fonction des teneurs en phénols totaux.	<b>30</b>

<b>Tableau 1</b>	: Squelette carbonique de quelques classes des polyphénols.	<b>5</b>
<b>Tableau 2</b>	: Aspect, couleur et rendement d'extraction des extraits phénoliques.	<b>23</b>
<b>Tableau 3</b>	: Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes de différents extraits étudiés.	<b>24</b>
<b>Tableau 4</b>	: Les valeurs d'EC <sub>50</sub> en (µg /mL) des différents extraits.	<b>29</b>

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

**Partie I: Etude bibliographique**

**Chapitre I: Composés Phénoliques**

I.1 Les composés phénoliques .....	3
I.1.1 Définition.....	3
I.1.2 Les principales voies de biosynthèse des composés phénoliques .....	3
I.1.2 Les principales voies de biosynthèse des composés phénoliques .....	3
I.1.3 Classification .....	4
I.1.4 Rôle des composés phénoliques .....	5
I.2 Les flavonoïdes .....	6
I.2.1 Définition et structure .....	6
I.2.2 Les principales voies de biosynthèse des flavonoïdes .....	7
I.2.3 Classification .....	9
I.2.4 Rôle des flavonoïdes .....	9

**Chapitre II : Stress oxydant et les antioxydants**

II.1 Les radicaux libres .....	10
II.1.1 Définition .....	10
II.1.2 Phénomène d'oxydation .....	11
II.1.3 Les principaux radicaux libres .....	11
II.2 Le stress oxydant .....	12
II.2.1 Définition .....	12
II.2.2 Implications pathologiques des ERO .....	13
II.2.3 Evaluation du stress oxydant .....	13
II.3 Systèmes de défenses antioxydants .....	14
II.3.1 Définition .....	14
II.3.2 Classification des systèmes antioxydants .....	14
II.3.3 Les composés phénoliques comme antioxydants .....	15
II.3.4 Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante .....	16

## **Partie II: Etude expérimentale**

### **Chapitre III : Matériel et Méthodes**

III.1 Matériel .....	17
III.1.1 Matériel végétal .....	17
III.1.1.1 Position systématique de Phoenix dactylifera L.....	18
III.1.1.2 Prétraitement des échantillons .....	18
III.1.2. Principaux appareils utilisés .....	18
III.2. Méthodes .....	19
III.2.1 Préparation des extraits phénoliques .....	19
III.2.2 Analyse quantitative .....	19
III.2.2.1 Dosage des phénols totaux .....	19
III.2.2.1 Dosage des phénols totaux.....	19
III.2.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	20
III.2.3 Evaluation du pouvoir antioxydant .....	21

### **Chapitre IV : Résultats et discussion**

IV.1 Extraction des composés phénoliques .....	23
IV.2 Analyse quantitative .....	24
IV.3. Evaluation du pouvoir antioxydant .....	27
<b>Conclusion générale</b> .....	32
<b>Références bibliographiques</b> .....	34

### **Annexe**

# *Introduction*

Depuis plusieurs années, spécial attention a été accordée au stress oxydant; qui est un cas d'une production excessive des espèces réactives de l'oxygène dans l'organisme (*Berger M.M., 2006*). En raison de la capacité des ERO à endommager presque tous les types des molécules dans l'organisme, ils ont été impliqués dans un très grand nombre de pathologies tant aiguës que chroniques (*Reynertson K.A. et al, 2008*).

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé. Les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaires ont été questionnés au cours des dernière années et la nécessité de les substituer par des antioxydants naturels, issus de plantes, est apparente en particulier les composés phénoliques qui sont des puissants antioxydants (*Contini M. et al, 2008*). Ces composés forment une partie importante de l'alimentation humaine qui peut être obtenue par des herbes alimentaires, épices, fruits et légumes (*Gonçalves R. et al, 2011*).

Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est un membre de la famille monocotylédone Arecaceae appelé «Nakhla ». Il est bien cultivé et considéré comme une source importante de nourriture dans Moyen-Orient et les pays d'Afrique du Nord (*Akunna G. et al, 2012*).

En Algérie, la phoeniciculture (la culture des palmiers dattier) constitue la base de l'agriculture saharienne, elle couvre environ 22 % de la superficie totale d'exploitation agricole, et représente 89% des plantations dans la wilaya de Ghardaïa, selon les estimations de la DSA. La production mondiale s'élève à plus de 58 millions de tonnes plaçant ainsi l'Algérie au 6<sup>ème</sup> rang des pays producteurs de dattes avec 470 000 t/an, dont 30% sont des dattes communes à faibles valeurs marchandes pour la plus part destinées à l'alimentation du bétail (*FAO, 2007*).

La datte a été depuis des temps immémoriaux un élément très important dans l'alimentation, tant pour les humains (les dattes molles) que pour les animaux (les dattes sèches), cependant divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique de la datte en : sucres, protéines, lipides, fibres et minéraux tandis que les études sur les composés phénoliques restent peu nombreuses (*BehijaSaafi E. et al, 2011*).

La présente étude apporte une contribution à l'étude phytochimique de différents constituants de *Phoenix dactylifera* L., variété Ghars de la région de Metlili (Ghardaïa) avec une évaluation de leur pouvoir antioxydant.

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude des composés phénoliques des dattes. Cependant, aucun essai phytochimique touche les autres constituants de *Phoenix dactylifera* L., raison pour laquelle nous avons mis en place une stratégie de recherche en commençant dans un premier temps par une synthèse bibliographique sur les composés phénoliques et le stress oxydatif. La deuxième partie concerne le travail expérimental réalisé au laboratoire de l'Université de Ghardaïa ayant pour but l'extraction et le dosage des composés pouvant présenter des activités et intérêts potentiels comme les phénols totaux, les flavonoïdes et l'évaluation de leur activité antiradicalaire en adoptant un test chimique, le test du DPPH. La troisième partie englobe les résultats et les discussions suivies d'une conclusion générale et des perspectives de recherche sur ces constituants végétatifs.

***Partie I:***  
***Etude bibliographique***



***Chapitre I:***  
***Les composés phénoliques***

L'utilisation des végétaux par l'homme se confond avec l'histoire même de l'humanité, à la fois à des fins alimentaires (pour son alimentation et ultérieurement celle des animaux qu'il a progressivement domestiqué), de protection (celle de ses abris et pour ses propres vêtements), énergétiques (feu, énergies fossiles) et de lutte contre la maladies par constitution d'une médecine et d'une pharmacopée traditionnelles (*Machiex J. J. et al, 2005*).

L'importance des plantes douer à leur capacité à produire des substances naturelles ont des intérêts multiples; parmi ces composés on trouve dans un grand mesure d'un point de vue application "les métabolites secondaires" (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques,...) (*Machiex J. J. et al, 2005*). Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basés sur les cultures *in vivo* et *in vitro* des tissus végétaux; ceci est notamment le cas des composés phénoliques (*Lhuillier A., 2007*).

Actuellement, ces composés occupent une grande importance grâce à leurs multiples vertus et applications dans l'industrie agro-alimentaire, la cosmétique, les domaines pharmaceutiques et médicinales (*Ksouri R. et al, 2006*).

## **I.1 Les composés phénoliques**

### **I.1.1 Définition**

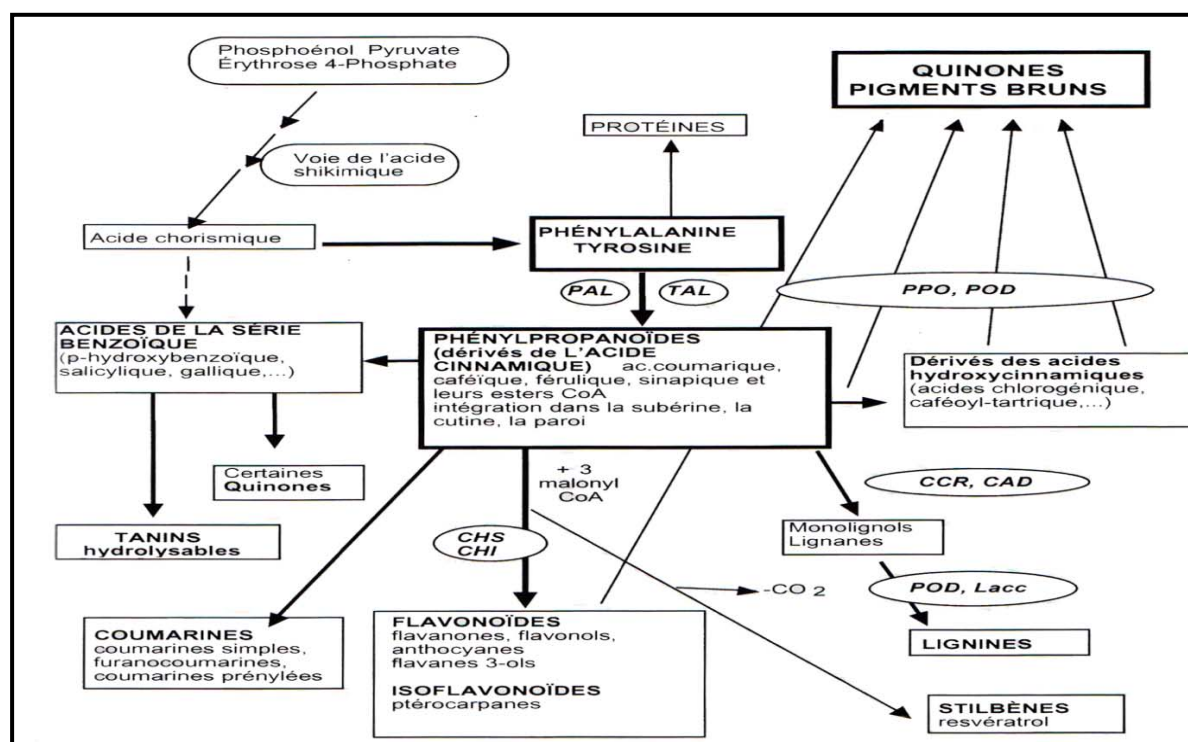
Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'au moins un cycle aromatique portants un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés avec d'autre fonction (*Boizot N. et al, 2006*). Ils sont très inégalement répartis chez les différentes espèces végétales et pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique mais également trouver dans tous les niveaux et les organes de la plante (fruits, feuilles, tiges,...) (*Machiex J.J. et al, 2005*).

### **I.1.2 Les principales voies de biosynthèse des composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques (*Martin S. and Andriantsitohaina R., 2002*):

- celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.

- elle issue de l'acétate, qui conduit à des poly $\beta$ -coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones.



**Figure 1 :** Les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques  
(Machiex J. J., 1996).

De plus, la diversité structurale des composés phénoliques, due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Martin S. and Andriantsitohaina R., 2002).

### I.1.3 Classification

Les composés phénoliques constituent un des groupe le plus nombreux et largement distribué dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (Ferguson L.R., 2001). Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols existent également (Martin S. and Andriantsitohaina R., 2002).

Le grand nombre de structure chimique des composés phénoliques peut être regroupés en nombreuses classes qui se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...) et par les liaisons possibles avec d'autres molécules (*Machiex J.J. et al, 2005*). Quelques squelettes de bases des composés phénoliques sont illustrés dans le tableau suivant (Tableau 1).

**Tableau 1:** Squelette carbonique de quelques classes des polyphénols (*Ferguson L.R., 2001; Machiex J.J. et al, 2005*).

Classes	Squelettes de bases	Exemples
Acides hydrobenzoïques	C6-C1	Acide gallique, acide tannique
Acides hydroxycinnamiques	C6-C3	Acide caféique, férulique
Coumarines	C6-C3	Scopolétine, esculétine
Naphtoquinones	C6-C4	Juglone
Stilbènes	C6-C2-C6	Resvératrol
Flavonoïdes	C6-C3-C6	Quercétine, cyanidine, kaempferol
Lignines	(C6-C3) n	
Tannins	(C15) n	

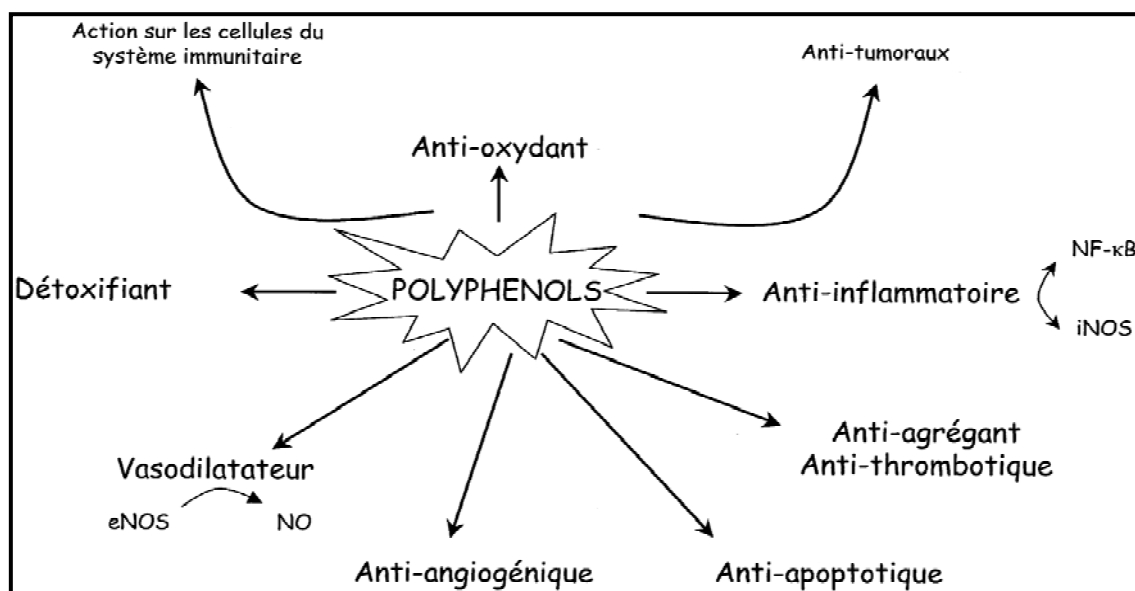
#### I.1.4 Rôle des composés phénoliques

La différenciation structurale des composés phénoliques contribuée à l'extension de leurs spectres d'activité dans les différents domaines fondamentaux et appliqués liées aux plantes ou aux activités humaines à des fins diététiques et thérapeutiques (*Petti S. and Scully C., 2009*).

Les composés phénoliques jouent plusieurs rôle dans les interaction entre la plante et son environnement, ils participent à la défense de la plante contre les agressions d'origine biologique. Ainsi, la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (*Rees S. et Harborne G., 1985*). En plus, les pigments responsables de la coloration des fleurs représentent des signaux visuels qui attirent des animaux pollinisateurs. La plupart de ces pigments sont des anthocyanes, des aurones et des chalcones. D'autres polyphénols incolores tels que des flavonols et flavanones interagissent avec des anthocyanes pour altérer, par co-pigmentation, la couleur des fleurs et fruits (*Brouillard R. and Délaporte B., 1997*).

La consommation d'aliments riches en composés phénoliques (tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, comme les jus des fruits ou le thé) présentent un intérêt à ne pas négliger dans la prévention mais également dans le traitement des nombreuses pathologies, dont ils sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Plus de 50 spécialités contenant un ou plusieurs polyphénols sont actuellement disponibles (Martin S. and Andriantsitohaina R., 2002).

En plus, les composés phénoliques ont un large spectre d'activité physiologique comme : l'activité antimicrobienne, anti-allergique, anti-cancéreuse, anti-inflammatoire, anti-oxydante, et antiradicalaire. Ils peuvent aussi jouer le rôle d'inhibiteurs d'une large gamme d'enzymes (Bahorun T., 1997; Ksouri R., 2006; Javanmardia J. et al, 2003.; 2008 ; Martin S. and Andriantsitohaina R., 2002.) (Figure 2).



**Figure 2:** Les principales activités biologiques des composés phénoliques.

eNOS, NO: synthase endothéliale ; NO: synthase inductible ; NF-κB: facteur nucléaire -κB.

## I.2 Les flavonoïdes

### I.2.1 Définition et structure

Les flavonoïdes constituent un très vaste groupe de plus de 6 000 composés. Ils sont rencontrés dans les fruits, les légumes et dans plusieurs plantes médicinales (Ghedira K., 2005). Il est important de noter, que les flavonoïdes constituent des pigments responsables de colorations jaune, orange et rouge des différents organes végétaux (Marais J. P.J. et al, 2006; Buer C. S., et al, 2010).

Tous les flavonoïdes ont la même structure de base qui est le noyau de flavone (2 phényl-benzo- $\gamma$ -pyrone ou bien diphényle propane) parce qu'ils dérivent d'une origine biosynthétique commune (Mantas A. *et al*, 2000). Le diphényle propane (C6-C3-C6) possède un squelette de base de 15 atomes du carbone C constitués de deux cycles benzéniques notés A et B reliés par un hétérocycle oxygéné (Kone D., 2009; Marais J. P.J. *et al*, 2006).

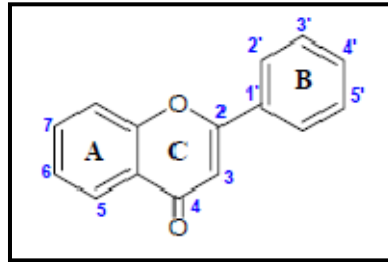


Figure 3: Squelette de base des flavonoïdes.

### I.2.2 Les principales voies de biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4, 2',4',6'-tétrahydrochalcone. Cette chalcone métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en naringénine (1); sur cette dernière agit la flavone synthase pour donner: apigénine (2) ou le dihydroflavonol (3). Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase, se métabolise en kaempférol(4) ou en leucoanthocyanidol. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3,4-ols (6) et anthocyanidols (7), ce dernier sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) (Marfak A., 2003).

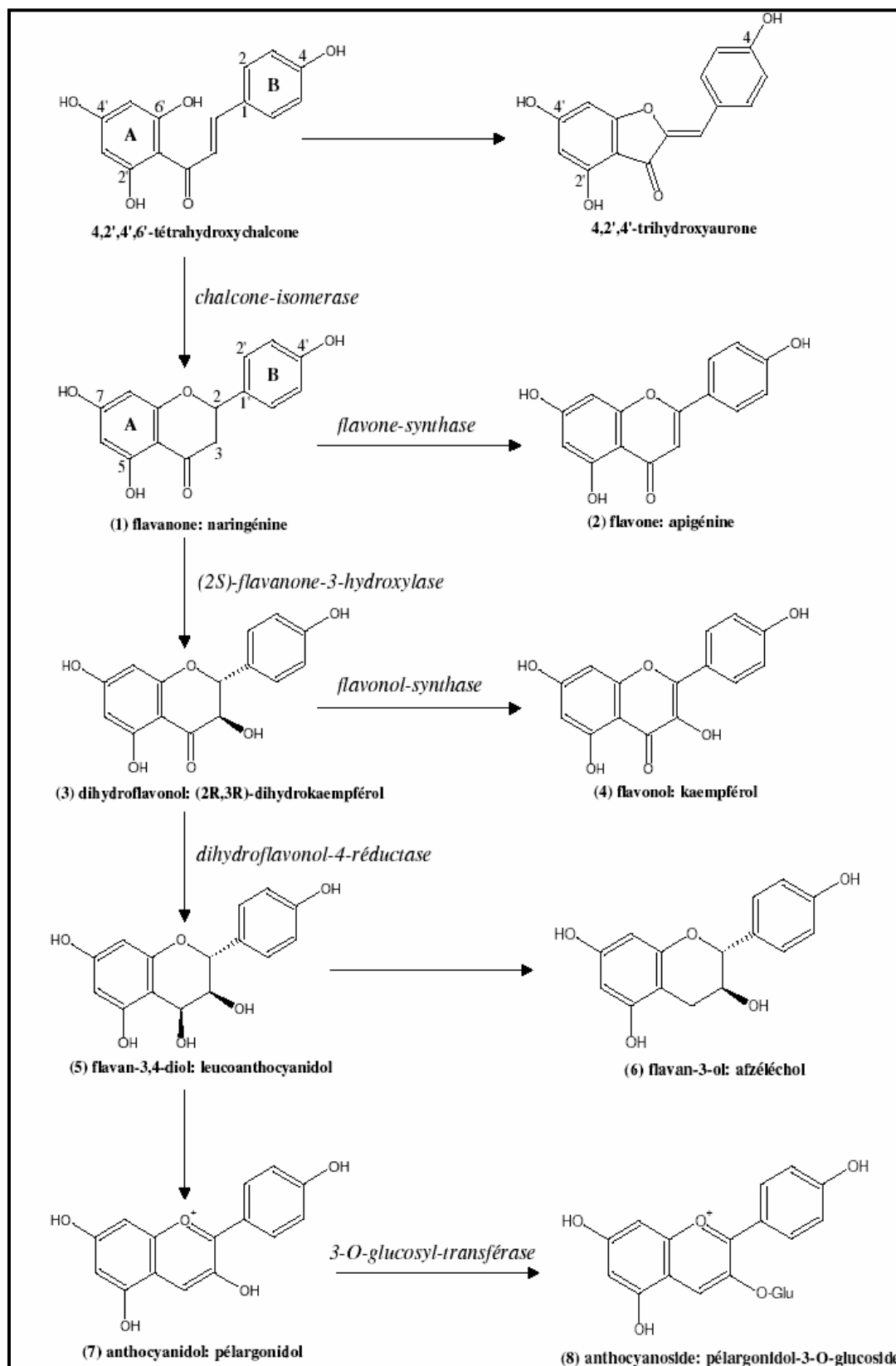


Figure 4: Biosynthèse des principales familles des flavonoïdes (Marfak A., 2003).

### I.2.3 Classification

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en 13 familles selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, lequel peut-être ouvert et recyclé en un motif furanique (*Ghedira K., 2005*). Ces différentes familles forment plusieurs composés par la substitution des cycles A et B. Parmi les nombreuses familles, on peut retenir les principales: les flavones, flavonols, flavanone, flavanols, anthocyanes et proanthocyanidols (*Petti S. and Scully C., 2009*) (Annexe). Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous la forme libre ou sous la forme de glucosides, et plus de deux cents d'entre elles ont été décrites à ce jour. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone (*Marfak A., 2003*).

### I.2.4 Rôle des flavonoïdes

Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, antitumorales, antiallergiques et anticancéreuses (*Ghedira K., 2005*). Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique «P» qui intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale. D'autres flavonoïdes sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires (*Mohammedi Z., 2006*). Certains travaux suggèrent que certains flavonoïdes posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène. (*González M. E., 2006*).

Outre ces propriétés, les flavonoïdes (quercétine et naringénine) sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. Ils préviennent également la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristallin (*Marfak A., 2003 ; Ghedira K., 2005*).

Ils sont également responsables à l'inhibition de certaines enzymes impliquées dans la formation des radicaux libres tels que la xanthine oxydase, la cyclooxygénase, la lipooxygénase, les monooxygénase microsomiale et d'autres enzymes digestives (trypsine, lipase, amylase...) (*Ghedira K., 2005; Lhuillier A., 2007*).

En plus, les travaux sur les flavonoïdes confirment leurs propriétés antioxydantes; dont ils peuvent réduire les radicaux libres très oxydés comme les superoxydes, les radicaux peroxydes et les radicaux hydroxyles par transfert d'hydrogène. Le radical flavonoïde ainsi formé est stable et interrompt les événements de dégradation cellulaires initiés par l'attaque radicalaire (*Lhuillier A., 2007*).



## ***Chapitre II:***

# ***Stress oxydant et les antioxydants***

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités de dérivés réactifs de l'oxygène. Le rôle physiologique de cette production basale de dérivés réactifs de l'oxygène n'est pas totalement connu, mais certaines de ces molécules pourraient avoir une fonction dans les processus de signalisation cellulaire (*Clarkson P.M. et Thompson H.S., 2000*).

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant « un stress oxydatif » que l'on définit comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces molécules (*Berger M.M., 2006*). En raison de leur capacité à endommager presque tous les types de molécules dans l'organisme, les dérivés réactifs de l'oxygène ont été impliqués dans un très grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques (*Reynertson K.A. et al, 2008*).

## **II.1 Les radicaux libres**

### **II.1.1 Définition**

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules présentant un ou plusieurs électrons célibataires. Ces électrons célibataires sont les facteurs d'instabilité et de réactivité puisque l'espèce radicalaire a tendance à les apparier en captant d'une autre molécule ou à les céder (*Delbart C., 2000*).

Dans les systèmes vivants, la production de la plupart des radicaux libres provient de l'activité de la xanthine oxydase et NADPH-oxydase, cytochromes P-450, myéloperoxydase, NO synthase et de la chaîne respiratoire qui est une source permanente des ERO (*Genestra M., 2007; Berger M.M., 2006*). La production des radicaux libres est donc largement physiologique: elle est déterminée, dirigée, et utile (*Berger M.M., 2006*). Bien que physiologique, la production de radicaux libres peut être accidentelle; comme l'exercice vigoureux qui accélère la formation de radicaux libres, ainsi l'inflammation, l'exposition à certains produits chimiques, la fumée de cigarette, l'alcool, les situations pathologiques, la pollution ambiante et les diètes riches en matières grasses (*Berger M.M., 2006; Marc F. et al, 2004*).

### II.1.2 Phénomène d'oxydation

Les molécules agressées par les radicaux oxydants deviennent à son tour radicalaire initiant de cette façon un phénomène d'oxydation en chaîne qui se caractérise par trois étapes (*Koechlin-Ramonatxo C., 2006; Marc F. et al, 2004*).

- (i) **Initiation:** C'est la phase où se forme un premier radical libre. L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).

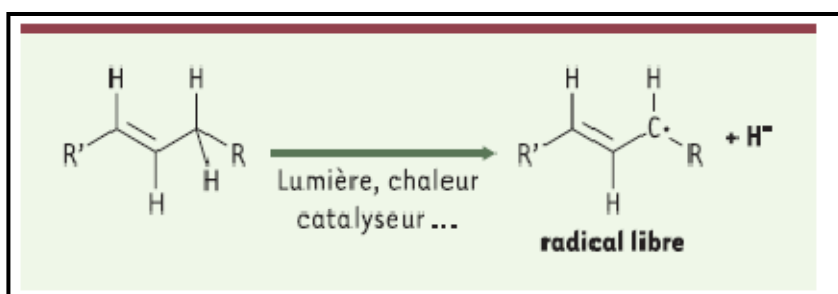


Figure 5: La phase de déclenchement

- (ii) **Propagation:** Dans cette phase, l'oxygène fixé donne un radical peroxyde qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydroperoxyde.

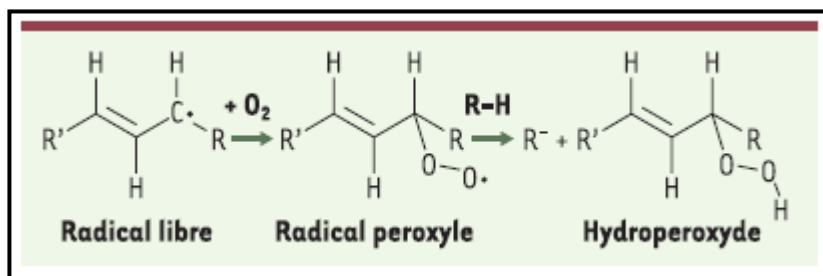


Figure 6: La phase de propagation

- (iii) **Terminaison:** c'est la phase où se recombinent différents radicaux formés et provoquant enfin une perturbation de la cellule vivante.

### II.1.3 Les principaux radicaux libres

Les principaux radicaux entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ )) (*Shahin Sharif A. et al, 2008*), certains dérivés oxygénés non radicalaires cependant la toxicité est importante en particulier le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxyde d'azote ( $ONOOH$ ).

C'est pourquoi le terme d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est préféré à celui de radicaux libres puisque le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre (Goudable J. et Favier A., 1997).

## II.2 Le stress oxydant

### II.2.1 Définition

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses anti-oxydants et la production d'ERO, en faveur de ces dernières. La génération des radicaux libres accable le système de défenses antioxydantes, que ce soit par une production accru d'oxydants et/ou par une défense antioxydante défailante (Sorg O., 2004).

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (ADN, glucides, protéines, lipides), et de la perte de contrôle des voies de signalisation intracellulaires redox. Le stress oxydant se traduit au niveau des mitochondries par une peroxydation lipidiques, oxydation des protéines et des mutations dans l'ADN qui peuvent être à l'origine de la survenue de certains cancers (Edeas M., 2009 ; Benseguni A., 2007).

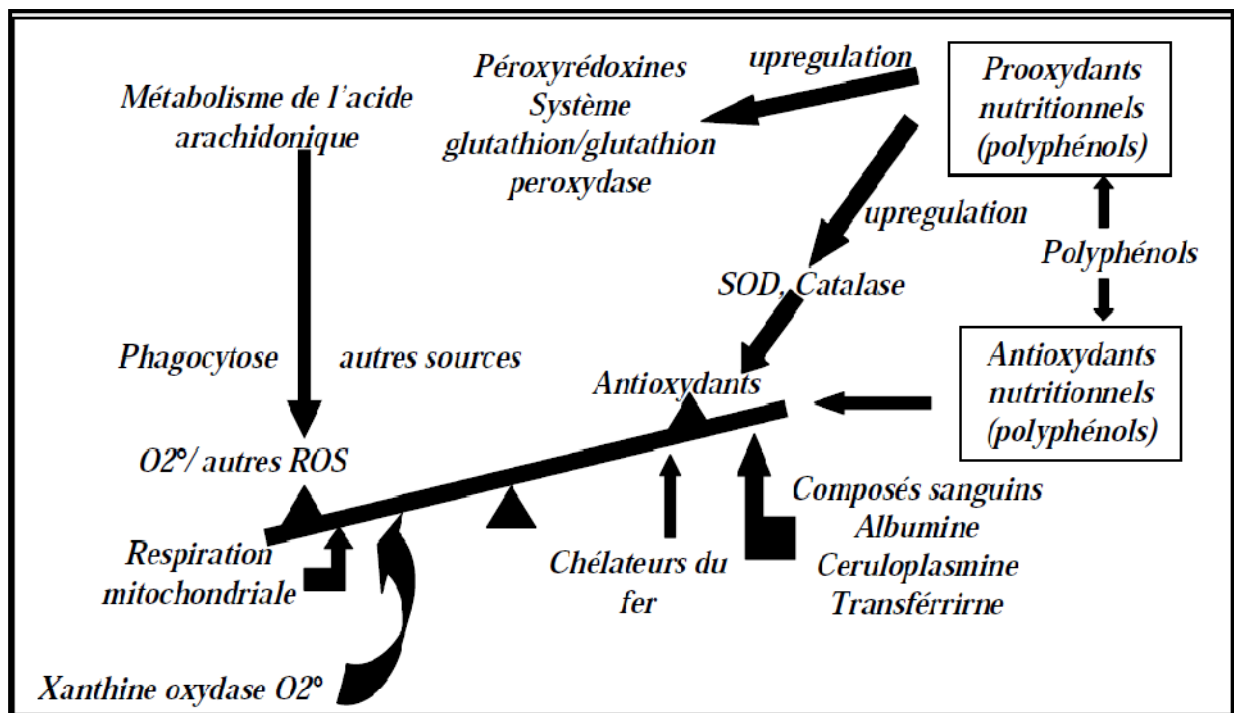


Figure 7 : Déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les ERO in vivo (Halliwell B., 2009).

## II.2.2 Implications pathologiques des ERO

En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, ont identifié le stress oxydant comme cause première de plus de 130 maladies chroniques telles que le cancer, le diabète la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires et d'autres encore (Parkinson, obésité, vieillissement cutané). (*Berger M.M., 2006; Shahin Sharif A. et al, 2008; Moure A. et al, 2001; Favier A., 2003*).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés (*Sohal R.S. et al, 2002; Guinebert E. et al, 2005*).

Il semble donc intéressant de soutenir les défenses antioxydantes de l'organisme pour éviter cette rupture. Les défenses exogènes semblent les plus faciles à conforter puisqu'elles pourraient être renforcées par des apports de compléments alimentaires (*Berger M.M., 2006*).

## II.2.3 Evaluation du stress oxydant

Par ailleurs, la mesure du stress oxydant chez l'homme est difficile, car les radicaux libres ont une demi-vie très courte et leur concentration dans l'organisme est très faible. Donc, il n'existe pas actuellement un index ou un marqueur reconnu du stress oxydant. C'est pourquoi on utilise un grand nombre d'indicateurs qui subdivisé en trois grandes voies d'approches:

- La mesure de la production des ERO,
- La mesure des capacités de défense (statut antioxydant),
- La mesure des désordres biochimiques spécifiques créés par l'attaque des radicaux libres sur les principales cibles moléculaires (protéines, lipides et acides nucléiques). (*Goudable J. and Favier A., 1997*).

## II.3 Systèmes de défenses antioxydants

### II.3.1 Définition

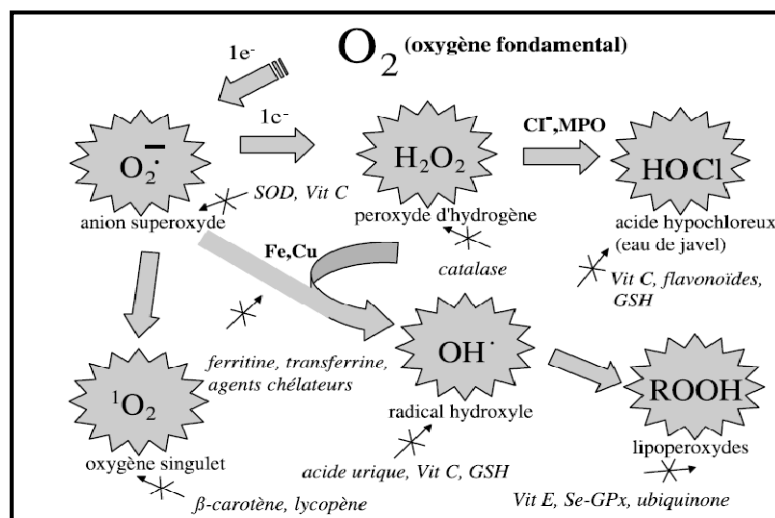
L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des radicaux libres. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme «antioxydant».

Un antioxydant défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, de retarder ou inhibe significativement l'oxydation des molécules vitales (*Halliwell B. et Gutteridge GM., 1990; Marc F. et al, 2004*). Les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire (*Dutta Gupta S., 2011*). L'intervention des antioxydants peuvent avoir à différents niveaux du processus oxydatif (*Baskin S.I and Salem H., 1994*), en :

- Neutralisant les radicaux initiateurs;
- Liant les ions métalliques;
- Neutralisant les radicaux peroxydes;
- Eliminant les biomolécules endommagées par oxydation, ainsi que d'autres types de réactions.

### II.3.2 Classification des systèmes antioxydants

Les systèmes antioxydants sont de deux types, soit des molécules captent rapidement les ERO (systèmes non enzymatiques) qui sont principalement des composés à faible poids moléculaire incluant: la vitamine C, le glutathion, l'acide urique, et les antioxydants lipophiles comme la vitamine E et le coenzyme Q (*Favier A., 2003; Pincemail J. et al, 2002; Javanmardi J. et al, 2003*), soit des systèmes enzymatiques catalysant la conversion des molécules oxydantes (*Shahin Sharif A. et al, 2008*) comme la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion Peroxydase, la glutathion reductase,...(*Goudable J. et Favier A., 1997*).



**Figure 8 :** Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail J. et al, 2002).

Une autre catégorie d'antioxydants selon leur origine, les antioxydants de synthèse par exemple butylhydroxytoluène (BHT) et butylhydroxyanisole (BHA) (Krishnaiah D. et al, 2010) qui présentent des effets négatifs sur l'organisme contribuant à l'apparition de certaines maladies (Balasundram N. et al, 2006), ou bien les antioxydants naturels qui sont représentés généralement en grand groupe de composés phénoliques (Shahin Sharif A. et al, 2008). Les deux origines sont apportées également par l'alimentation (Koechlin-Ramonatxo C., 2006).

### II.3.3 Les composés phénoliques comme antioxydants

Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des molécules issues de plantes, qui sont des composantes essentielles des aliments (fruits et légumes) et assurent le bien-être des Hommes (Bhooshan Pandey K. and Ibrahim Rizvi S., 2009).

Les antioxydants présents dans les plantes médicinales et plus spécifiquement les composés phénoliques, sont bénéfiques à la santé humaine en neutralisant les dommages cellulaires causés par les radicaux libres et les molécules de dioxygène ou de peroxyde (Louis Léger C., 2006; Sanchez-Moreno C. et al, 1998; Rolland Y., 2004).

Les composés phénoliques ont attribué à différentes modes d'action par exemple: les composés phénoliques peuvent agir par plusieurs manières pour réguler le processus du stress oxydant: **(i)** par piégeage des espèces réactives de l'oxygène générées en permanence par notre organisme, **(ii)** par chélation des métaux de transition et **(iii)** par inhibition de quelques enzymes, en particulier les peroxydases (*Ferguson L.R., 200 ; Croft K. D., 1999*).

### II.3.4 Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

La recherche intensive aux composés antioxydants naturels est cheminée parallèlement avec le développement des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante de ces substances. L'activité antioxydante des composés phénoliques provient de leur capacité à donner un électron ou un hydrogène, et de délocaliser un électron impair à l'intérieur de leur structure aromatique. Ils protègent ainsi les molécules biologiques contre l'oxydation.

Les propriétés anti-oxydantes des composés phénoliques *in vitro* peuvent être évaluées grâce à plusieurs méthodes telles qu'ORAC (Oxygen Radical absorbance capacity) qui sert à évaluer la capacité antioxydante d'un aliment, ABTS (le balayage du radical cation 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) mesure la capacité réductrice de ce radical stable en présence d'antioxydants. Récemment, les mesures de l'activité anti-oxydante peuvent être aussi effectuées grâce aux modèles basés sur les cultures cellulaires (*Croft K. D., 1999; Krishnaiah D. et al, 2010; Tri Vuong P., 2009*).



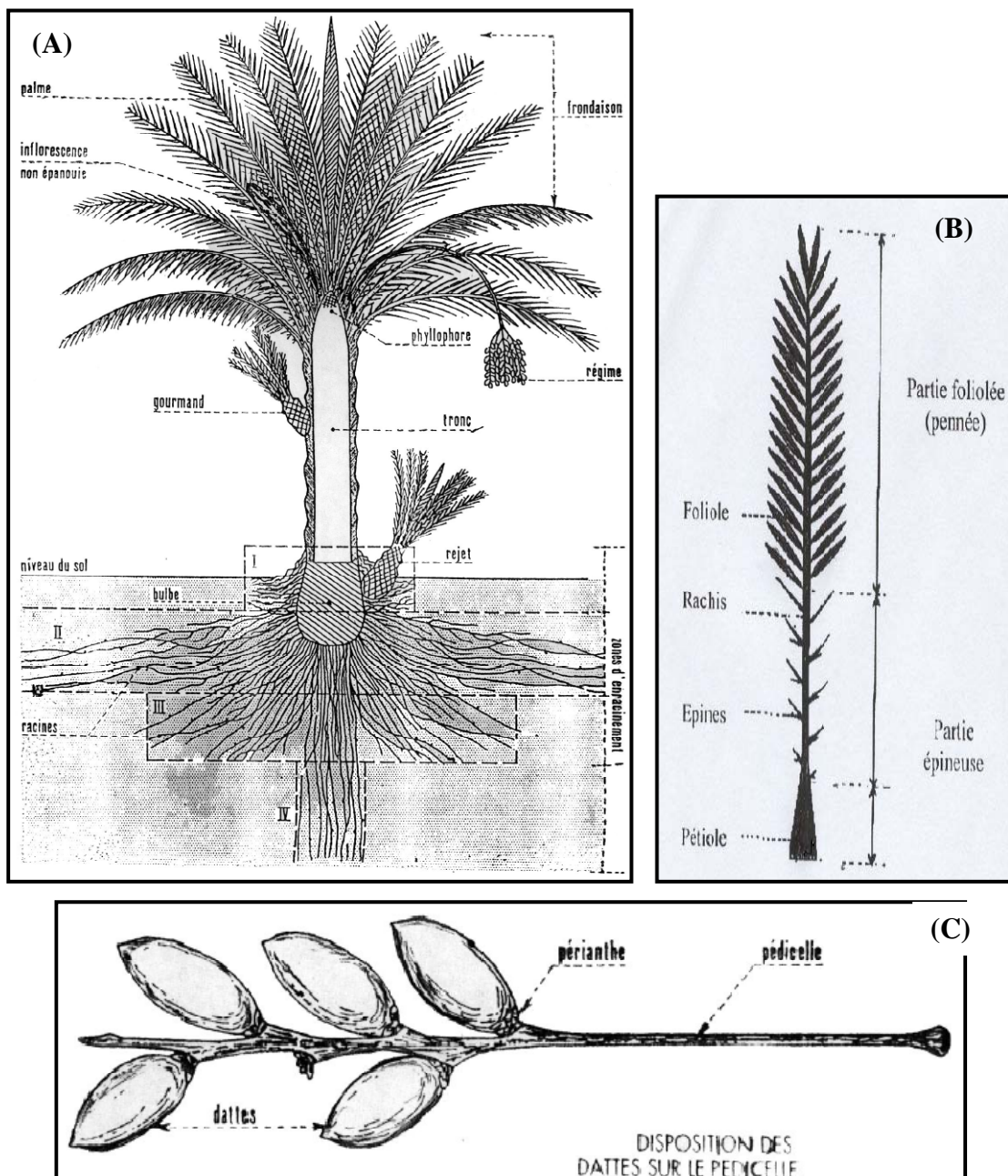
***Partie II:***  
***Etude expérimentale***

***Chapitre III:***  
***Matériel et Méthodes***

### III.1 Matériel

#### III.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de certains constituants de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), variété Ghars. Le choix de cette variété est justifié par sa qualité gustative, sa disponibilité sur le marché et sa large consommation à travers le territoire Algérien. Les différents constituants étudiés de palmier dattier sont: les dattes, les périanthes, les pédicelles et les palmes.



**Figure 9:** structure des différentes parties de palmier dattier (A), structure des différentes parties de palme d'un palmier dattier adulte (B) et disposition des dattes sur le pédicelle (C) (Moulay Hassan S., 1973).

### III.1.1.1 Position systématique de *Phoenix dactylifera* L.

La plante *Phoenix dactylifera* L. fait partie de la classe des Monocotylédones, d'une famille de plantes tropicales (*Palmoe* ou *Arecaceae*), la mieux connue sur le plan systématique. Elle est représentée par 200 genres et 2700 espèces réparties en six sous familles. La sous famille des Coryphoïdées est elle-même subdivisée en trois tribus (*Riedacker et al., 1990*).

La classification botanique du palmier dattier donnée par **Djerbi, (1994)** est la suivante:

- **Groupe** : *Spadiciflores* ;
- **Embranchement** : *Angiospermes* ;
- **Classe** : *Monocotylédones* ;
- **Ordre** : *Palmale* ;
- **Famille** : *Palmacées* ;
- **Sous famille** : *Coryphoïdées* ;
- **Tribu** : *Phoenicées* ;
- **Genre** : *Phoenix* ;
- **Espèce** : *dactylifera* L.

### III.1.1.2 Prétraitement des échantillons

La récolte de matériel végétal a été effectuée au cours du mois Septembre 2013 au niveau la région de «Metlili» (Ghardaïa). Pour chaque constituant étudié, la récolte est réalisée sur 4 à 5 palmiers homogènes. Après le séchage de périanthes, pédicelles et palmes à l'abri de la lumière et à température ambiante; la matière végétale est finement broyée et tamisée pour l'extraction. Également, les dattes sont récoltées à pleine maturité (Tamar) et sont conservées à -20°C.

### III.1.2. Principaux appareils utilisés

- Balance de précision type SARTORIUS;
- Evaporateur rotatif type HEIDOLPH;
- Agitateur magnétique-plaque chauffante;
- Spectrophotomètre UV/visible, type SHIMADZU UV-120-01;

## III.2. Méthodes

### III.2.1 Préparation des extraits phénoliques

Les composés phénoliques ont toutes des parties polaires hydrophiles, certaines ont des parties hydrophobes et leurs groupements alcool leur offrent la possibilité de former de nombreuses liaisons hydrogène, cela explique leur solubilité dans les solvants polaires. Les formes hétérosidiques de ces composés phénoliques sont classiquement solubles dans l'eau (*Machiex J.J. et al, 2005*).

Dans la présente étude, la méthodologie d'extraction a été effectuée suivant la méthode décrite par Marie-Joséphine Amiot (*Amiot M.-J. et al, 1986*), avec une légère modification.

A 5g de poudre des organes étudiés a été ajouté 100 ml d'un mélange hydro-alcoolique (eau-méthanol) 20/80 (v/v). Tandis que 10g de pulpe de datte broyées a été macéré dans 100 ml de même mélange; ces préparations maintenues au repos pendant 24 heures à l'obscurité. Après filtration du mélange sur du papier filtre (Wattman N° 01), le méthanol a été éliminé sous vide en utilisant un évaporateur rotatif à 50°C. Ensuite, l'élimination des pigments et des lipides a été effectuée par extraction liquide-liquide en utilisant l'hexane comme solvant. La phase aqueuse est ensuite lavée une ou plusieurs fois avec un même volume de diéthyle éther. Ce solvant permet d'extraire les composés phénoliques moyennement polaires. Les composés phénoliques ont été ensuite extraits par un lavage avec l'acétate d'éthyle en présence des solutions de 2% d'acide ortho phosphorique et de sulfate d'ammonium à 2%; ce lavage permet d'extraire les composés polaires. Les extraits obtenus sont séchés par le sulfate de sodium anhydre puis sont évaporés à sec. Les résidus obtenus sont repris dans un volume de 5 ml de méthanol pur et conservés à 4°C jusqu'à leur analyse.

### III.2.2 Analyse quantitative

#### III.2.2.1 Dosage des phénols totaux

**Principe:** Pour évaluer la quantité des phénols totaux, nous avons adapté la méthode de Singleton et Ross (1965) qui s'avère la plus sensible (*Bahurun T., 1997*). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans un extrait en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est formé d'hétéro polyacides; phosphomolybdiques et phosphotungstiques.

Ils oxydent les phénols en milieu alcalin en ions phénolates; par une réduction partielle de ces polyacides pour formé un complexe molybdotungstique bleu; absorbant à une longueur d'ondes de 760 nm basique (Boizot N. et Charpentier J – P., 2006).

La teneur en composés phénoliques dans nos extraits est exprimée en mg d'équivalent acide gallique (GAE) par gramme de matière sèche.

**Courbe d'étalonnage:** A partir d'une solution mère d'acide gallique (0.5 g/l), une gamme de dilution a été préparée. 100µl de chaque solution fille a été mélangé avec 500µl de réactif de Folin (10%). Après 5 min d'incubation, 2 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5%) a été ajouté et les mélanges sont maintenus à l'obscurité pendant 30 min. La lecture de la densité optique de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Les valeurs ainsi obtenues nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

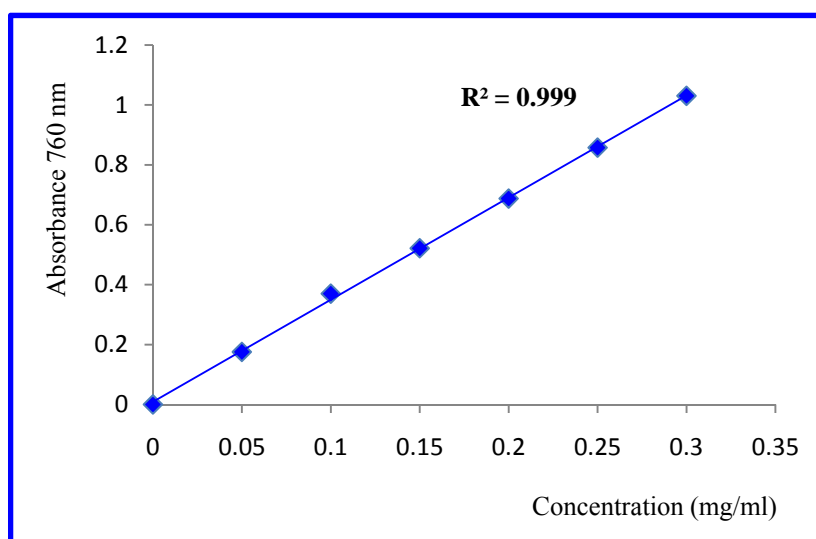


Figure 10: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

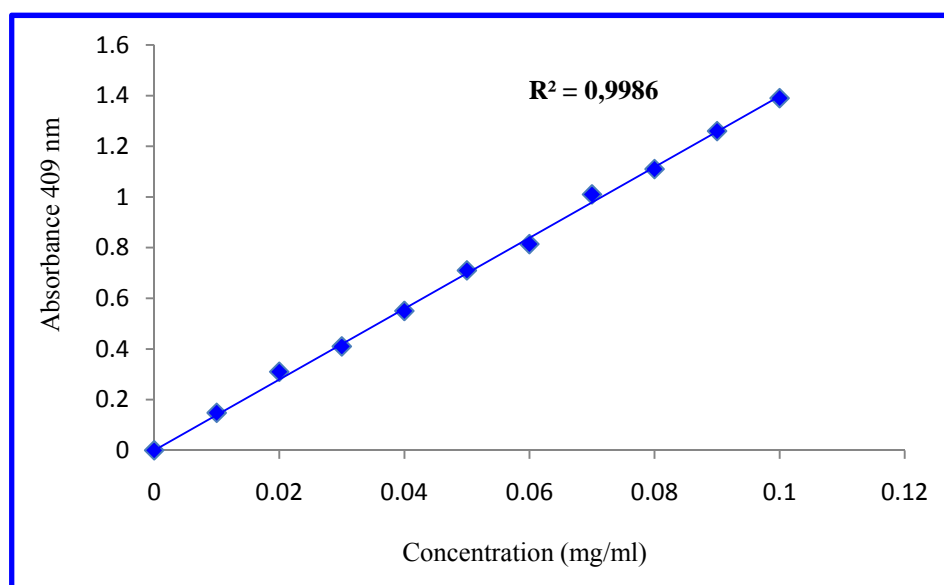
### III.2.2.2 Dosage des flavonoïdes

**Principe:** A fin de doser les flavonoïdes, nous avons utilisé la méthode adaptée par Lamaison et Carnat utilisant le réactif de tri chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Ce réactif va réagir avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes en produisant un complexe acide stable de coloration jaune dont son absorbance maximale est enregistré à 409 nm (Zhang L-L. et al, 2010).

Afin d'établir cette quantification, nous avons choisi la rutine comme référence pour établir la courbe d'étalonnage.

**Courbe d'étalonnage:** Après la préparation d'une gamme de différentes concentrations de la rutine, 1 ml de chaque solution a été ajouté à 1 mL de tri chlorure d'aluminium à 2%. Par la suite, les solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 20 min. L'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible, à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc.

Les valeurs ainsi obtenues, nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la rutine.

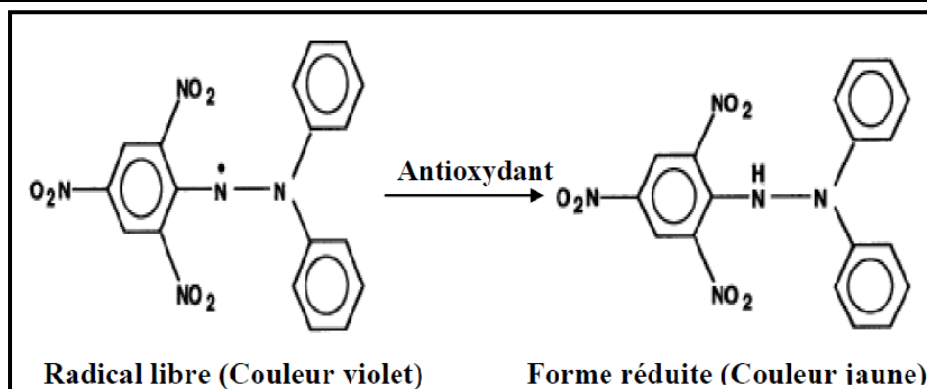


**Figure 11:** Courbe d'étalonnage de la rutine.

### III.2.3 Evaluation du pouvoir antioxydant

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de nos extraits a été réalisée par un test chimique *in vitro*. Dans ce test, on s'intéresse à mesurer l'activité de balayage du radical libre par les fractions antioxydantes de nos extraits phénoliques en employant le radical stable de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH'.

**Principe:** Cette méthode mesure la capacité réductrice d'un antioxydant (composés phénoliques dans notre cas), la réduction du radical libre DPPH' s'accompagne de la diminution de la coloration violette qui peut être suivie par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm (Siddhuraju P. and Manian S., 2007).



**Figure 12:** Réduction de radical libre DPPH<sup>•</sup> en présence d'antioxydant.

**Protocole expérimental:** Nos extraits ont été solubilisés dans du méthanol à différentes concentrations. 1 mL de chaque dilution est mélangé avec 1 mL de la solution méthanolique du DPPH<sup>•</sup> (250 µM), ce mélange est agité fortement puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée par un spectrophotomètre UV Visible à 517 nm contre un blanc.

La mesure de la décroissance de l'absorbance au spectrophotomètre nous a permis de calculer le I% (pourcentage d'inhibition) suivant la formule ci-dessous (*Brand Williams W. et al, 1994*) :

$$I\% = \left( 1 - \left[ \frac{A_{\text{extrait}}}{A_{\text{témoin}}} \right] \right) \times 100$$

Où

$A_{\text{témoin}}$ : désigne l'absorbance de la solution de DPPH<sup>•</sup> seul à 517 nm ;

$A_{\text{extrait}}$ : désigne l'absorbance du DPPH<sup>•</sup> en présence de l'extrait testé à 517 nm.



***Chapitre IV:***  
***Résultats et discussion***

## IV.1 Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques se fait à l'aide d'un système de solvant (méthanol/eau). Les extraits est ensuite réparti en deux solvants: l'acétate d'éthyle et di-éthyle éther, en fin huit extraits sont analysés.

Les extraits phénoliques ainsi obtenus présentent généralement un aspect pâteux pour tout les fractions de couleur jaune ou marron. Le rendement d'extraction, l'aspect et les couleurs des extraits pour les deux fractions sont représentés dans le tableau 2.

**Tableau 2:** Aspect, couleur et rendement d'extraction des extraits phénoliques.

L'extrait	Phase organique	Aspect	Couleur	Le rendement d'extraction %
Datte	Acétate d'éthyle	Pâteux	Jaune clair	0.27
	Di éthyle éther	Pâteux	Jaune clair	0.26
Périanthe	Acétate d'éthyle	Pâteux / poudreux	marron clair	0.52
	Di éthyle éther	Pâteux	jaune	0.48
Pédicelle	Acétate d'éthyle	Pâteux	jaune	0.49
	Di éthyle éther	Pâteux	blanche	0.44
Palme	Acétate d'éthyle	Pâteux	marron clair	1.06
	Di éthyle éther	Pâteux	jaune	0.47

L'examination générale des résultats de (tableau 2) indique l'enregistrement des faibles teneurs qui ne dépassent une teneur de 2%. Les valeurs des teneurs d'extraction des fractions d'acétate d'éthyle sont compris de 0,27% à 1,06% et de 0,26% à 0,48% pour les fractions di-éthyle éther.

Ces teneurs sont variés d'un extrait à un autre mais cette différence n'a pas enregistré entre les fractions. Cela indique que les deux solvants ont un même mode de diffusion dans la poudre ou la pâte de matières végétales étudiées; Ainsi, elle permet de raisonner une disposition approximative des composés moyennement polaires et polaires pour chaque extrait. A l'exception l'extrait des palme dont le passage des composés phénoliques polaire vers l'acétate d'éthyle est très remarqué.

## IV.2 Analyse quantitative

Parmi les méthodes de quantification des composés phénoliques, nous avons choisi la méthode adaptée par Singleton et Ross protocole qui utilise le réactif de Folin-Ciocalteu.

Il s'agit d'une méthode analytique biochimique nécessitant la prise d'échantillon, l'extraction des composés phénoliques à partir de ces échantillons puis une mesure spectrophotométrique des extraits.

Également, la quantification des flavonoïdes dans nos extraits a été effectuée suivant la méthode Lamaison et Carnat, avec le réactif de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) comme un réactif spectral.

Les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes de chaque extrait ont été alors calculées à partir des courbes d'étalonnage et exprimées en milligrammes équivalent en acide gallique (EAG) par gramme de la matière sèche pour les phénols totaux et en milligrammes équivalent à la rutine (ER) par gramme de la matière sèche pour les flavonoïdes. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes de différents extraits étudiés.

L'extrait	Phase organique	Teneur en Phénols Totaux (mg EAG/g)	Teneur en Flavonoïdes (mg ER/g)	Pourcentage des Flavonoïdes dans les phénols totaux (%)
Datte	Acétate d'éthyle	0.0415± 0,02	0.0344± 0,06	82,90
	Di éthyle éther	0.0120± 0,01	0.0026± 0,02	21,61
Périanthe	Acétate d'éthyle	0.1964± 0,07	0.0171± 0,05	8,71
	Di éthyle éther	0.8013± 0,03	0.1645± 0,08	20,53
Pédicelle	Acétate d'éthyle	0.6784± 0,05	0.2575± 0,03	37,96
	Di éthyle éther	0.1692± 0,04	0.0406± 0,01	23,99
Palme	Acétate d'éthyle	3.4733± 0,01	0.9789± 0,04	28,18
	Di éthyle éther	0.4127± 0,08	0.1577± 0,03	38,21

On constate d'après la synthèse de ces résultats, que le contenu des extraits en phénols totaux est varié entre 0.0415 et 3.4733 mg EAG/g pour les fractions d'acétate d'éthyle et de 0.0120 à 0.8013 mg EAG/g pour les fractions de di-éthyle éther. La mieux teneur est enregistrée dans l'extrait des palme pour la fraction d'acétate d'éthyle de 3.4733 mg EAG/g; par contre l'extrait des dattes a consigné les valeurs les plus faibles pour les deux fractions.

Au cours de la maturité des dattes, l'activité de la polyphénoloxydase est augmentée dont elle permet l'oxydation des composés phénoliques en conduisant au brunissement de la datte. Cette activité est diminuée dans le stade de Tamar, ce qui peut être justifié par la faible teneur en phénols totaux dans l'extrait des dattes. Comparativement à l'étude menée par *Mansouri A. et al., 2005* sur sept variétés de dattes algériennes à savoir: Deglet-Nour, Tazizaout, Ougherouss, Tantboucht, Tafiziouine, Tazerzait et Akerbouche a révélé une teneur phénolique variant de 2.49 à 8.36mg/100g du poids frais. Donc notre extrait est classé dans la même gamme avec ces variétés.

Généralement, les teneurs des extraits pour les deux fractions ne sont pas voisines qui confirment la différence des taux de composés phénoliques moyennement polaires et ceux polaires pour chaque extrait.

On peut noter ainsi que les différents constituants de palmier dattier étudiés dans cette étude ne présentent qu'une faible teneur de composés phénoliques par rapport à d'autres espèces investiguées dans le laboratoire des sciences fondamentales (*Djeridane A. et al, 2008*). Ces valeurs restent largement moins importantes en elle-même et présente presque des traces de composés phénoliques.

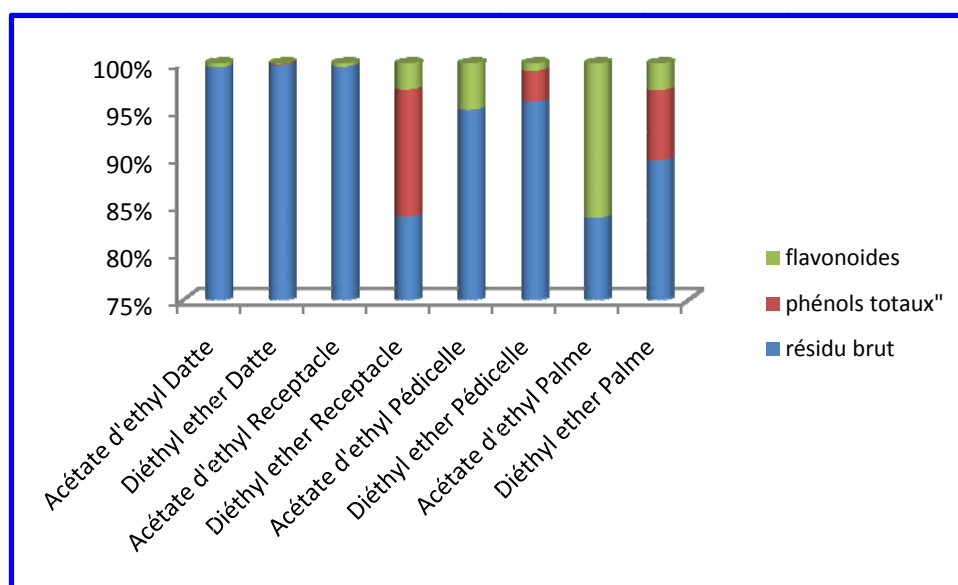
Souvent, la faible teneur en composés phénoliques est associée par plusieurs facteurs tels que la réelle pauvreté de nos extraits en ces composés, le mode d'extraction utilisé, ou bien l'effet des facteurs de l'environnement pendant la croissance normale de ces organes. Beaucoup de facteurs peuvent moduler la teneur de la plante en composés phénoliques. Il s'agit souvent de facteurs physiques, chimiques et biologiques, externes ou endogènes: lumière, température, potentiel osmotique, nutrition de palmier dattier, ... jouent un rôle important dans la modulation de l'expression du métabolisme phénolique (*Machiex J.J. et al, 2005*). En outre, plusieurs travaux ont montré l'implication de divers stress tels que les stress thermiques et hydriques dans la synthèse des composés phénoliques (*Falah H. et al, 2006*), de fait que les contraintes abiotiques du milieu (sécheresse, salinités, température élevée, ensoleillement) stimulent la biosynthèse de ces molécules (*Ksouri R. et al, 2006; Koç E. et al, 2010*).

En ce qui concerne la quantification des flavonoïdes qui ont été déterminés par la méthode du chlorure d'aluminium. La fraction d'acétate d'éthyle a montré des teneurs de 0.0171 mg ER/g pour l'extrait de périanthe à 0.9789 mg ER/g pour l'extrait de palme; tandis que pour les fractions de di-éthyle éther, on remarque des faibles teneurs allant de 0.0026 mg ER/g pour l'extrait des dattes à 0.1645 mg ER/g pour l'extrait de périanthe.

Il est clair que ces résultats ont bien cités la différence des teneurs entre les fractions, de fait que la fraction d'acétate d'éthyle a montré une forte présence de flavonoïde que celle de diéthyle éther dans la plus part des extraits; ceci peut être expliqué par le fait que les différents constituants de palmier dattier étudiés contenaient des substances flavonoïdiques polaires plus que moyennement polaires.

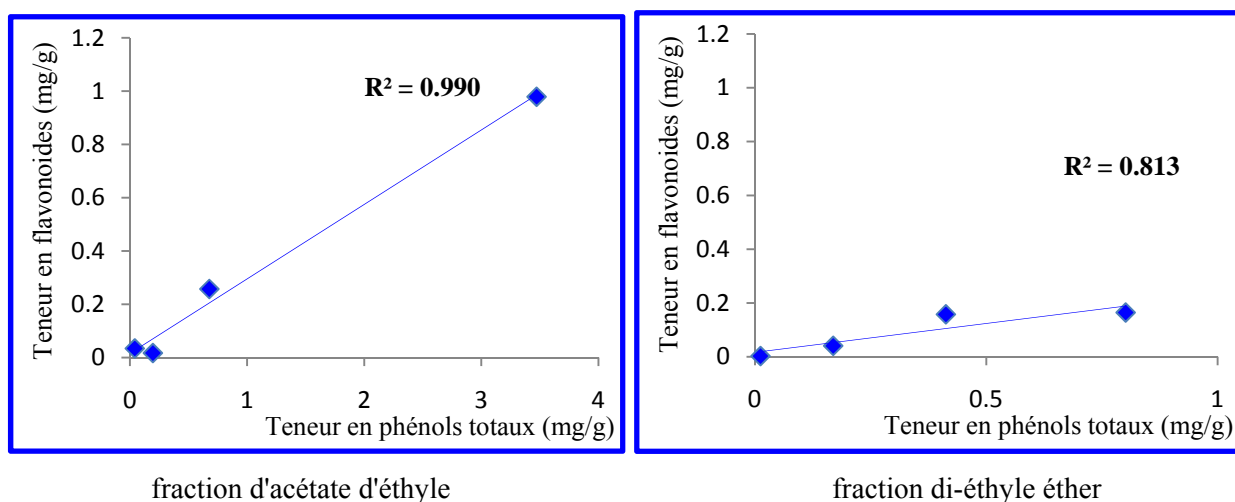
Les flavonoïdes sont constitués une classe très grande de l'ensemble des composés phénoliques, les teneurs obtenus en flavonoïdes des nos extraits sont généralement inférieurs de ceux des phénols totaux ce qui indique que les extraits phénoliques contiennent en plus des flavonoïdes d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (acide phénoliques, tanins, stilbènes...) et présentant en quantités importantes. Sauf l'extrait d'acétate d'éthyle des dattes qui présente un pourcentage très élevé de 82,90% qui montre la richesse de cet extrait en composés flavonoïdiques. Au niveau de chaque extrait, on remarque un différence dans le contenu en flavonoïde entre les deux fractions qui explique l'inégalité de taux des flavonoïdes polaires et moyennement polaires dans chaque organe étudié.

Dans un souci de simplification, nous avons représenté dans l'histogramme qui suit (figure 13) le contenu de l'extrait brut en composés phénoliques ainsi des flavonoïdes.



**Figure 13:** Pourcentages des phénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait brut.

Afin de chercher la présence d'une corrélation linéaire entre les différents extraits. Nous avons essayé de tracer des courbes représentant la variation des quantités des phénols totaux en fonction des teneurs en flavonoïdes dans les deux fractions (Figures 14).



**Figure 14:** Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux dans la fraction d'acétate d'éthyle et di-éthyle éther.

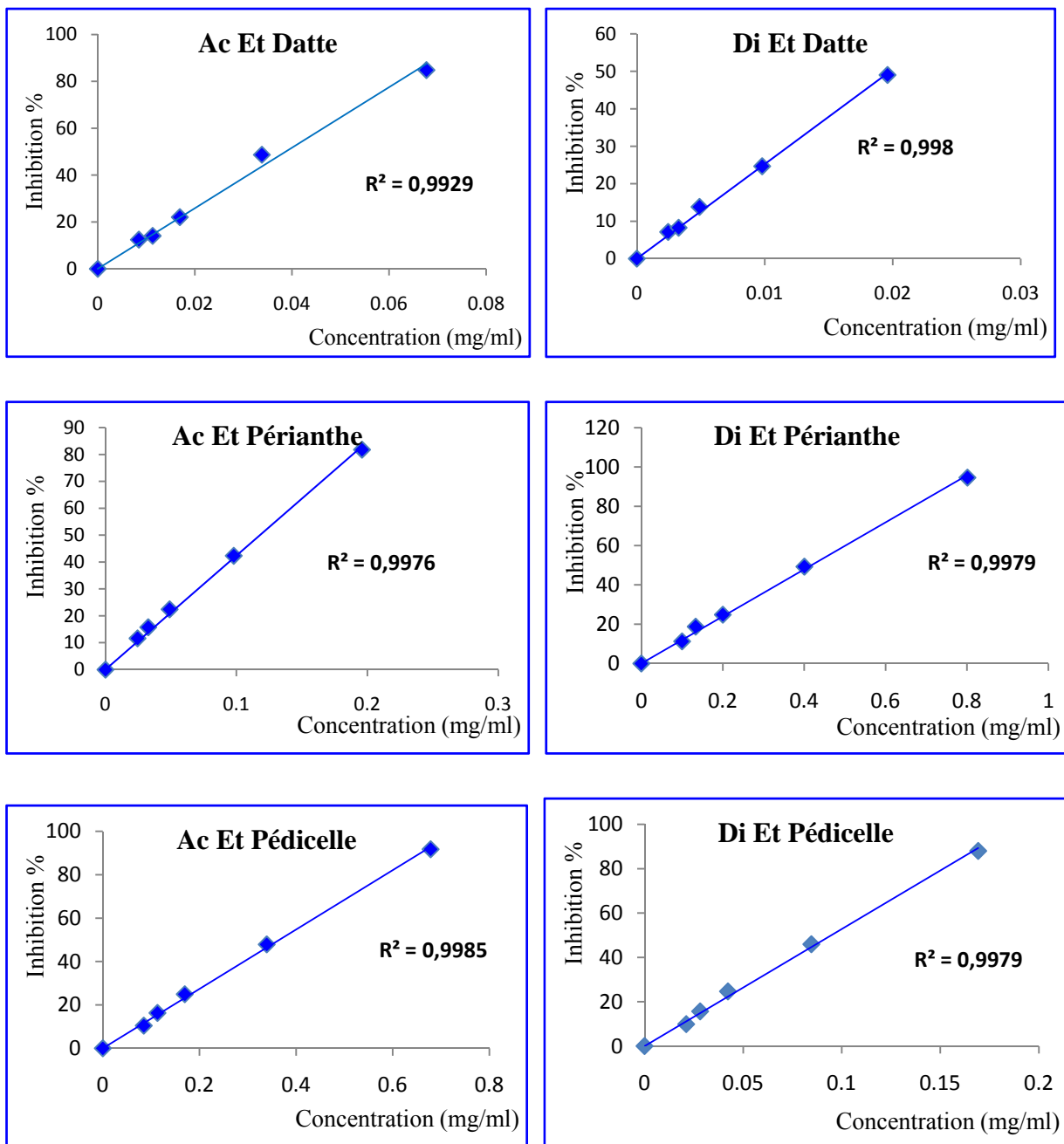
D'après les graphes représentés dans les figures ci-dessus, il convient de noter l'existence d'une bonne corrélation entre les quantités en phénols totaux et le contenu flavonoïdique des différents extraits avec un coefficient de corrélation  $R_2 = 0.99$  pour la fraction d'acétate d'éthyle et de 0.81 pour la fraction de di-éthyle éther. Ce résultat peut être traduit par le fait que la quantité des flavonoïdes varie proportionnellement avec le contenu en phénols totaux pour tous les extraits. Cette corrélation a montré l'existence d'une même classe de flavonoïdes dans ces extraits et pour chaque fraction.

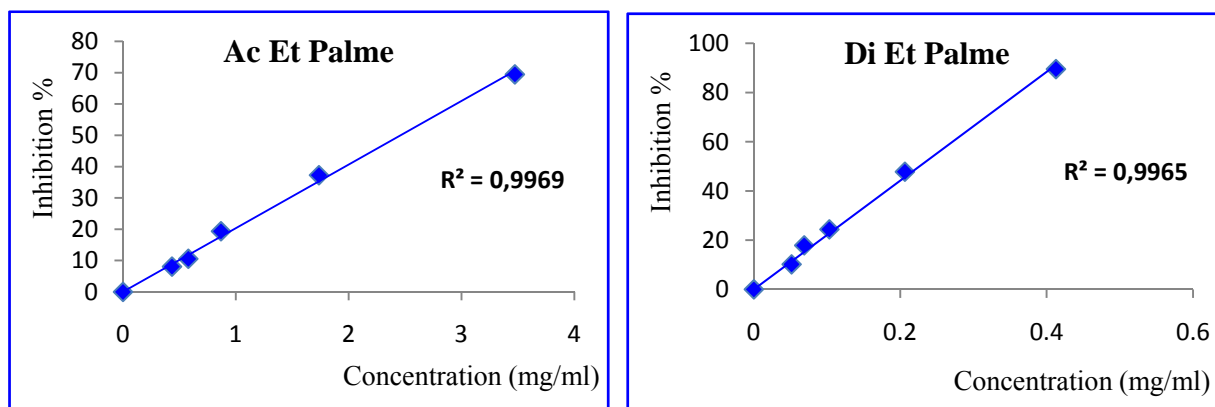
### IV.3. Evaluation du pouvoir antioxydant

Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des composés phénoliques particulièrement la classe des flavonoïdes qui ont contribué en plusieurs situations de ralentir l'action d'oxydant.

Les méthodes de piégeage des radicaux libres spécifiquement l'intervenir des chromogènes radicalaires sont les plus couramment utilisées en raison de leur facilité, de rapidité et de sensibilité (Krishnaiah D. et al, 2010).

Parmi lesquelles, la méthode de balayage du radical (DPPH $\cdot$ ) a été largement appliquée pour estimer l'activité antioxydante d'un matériel biologique. La réduction du radical libre DPPH $\cdot$  s'accompagne de la diminution de la coloration violette qui peut être suivie par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm. Les valeurs de chaque extrait obtenues sont exprimées en pourcentage d'inhibition I%, qui ont permis de tracer les graphes illustrant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en composés phénoliques de différents extraits (Figure 15).





**Figure 15:** Les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration des extraits phénoliques.

Ces tracées ont permis ensuite d'exprimer la capacité antioxydantes de nos différents extraits en la valeur "EC<sub>50</sub>" qui l'on définit par la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel, dont la valeur la plus faible est correspond à l'efficacité la plus élevée; elle est exprimés en mg/ml. Les valeurs d'EC<sub>50</sub> obtenues sont enregistrées dans le tableau 4.

**Tableau 4:** Les valeurs d'EC<sub>50</sub> en (µg /mL) des différents extraits.

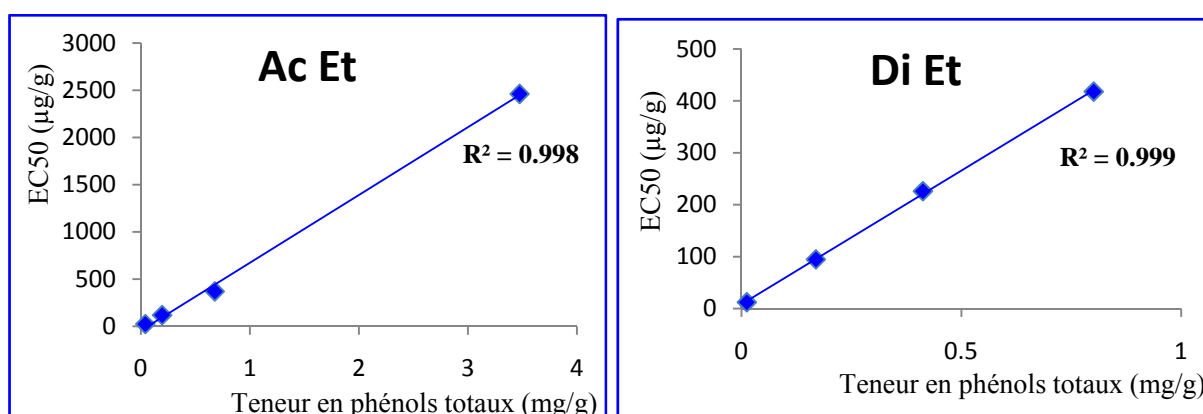
L'extrait	phase organique	EC50 en (µg/mL)
Datte	Acétate d'éthyle	038.69± 0,03
	Di éthyle éther	019.81± 0,02
Périanthe	Acétate d'éthyle	118.03± 0,04
	Di éthyle éther	418.06± 0,07
Pédicelle	Acétate d'éthyle	368.23± 0,01
	Di éthyle éther	094.75± 0,06
Palme	Acétate d'éthyle	2460.6± 0,05
	Di éthyle éther	226.14± 0,02

En analysant l'ensemble des résultats obtenus dans le Tableau (4) et sachant que le paramètre EC<sub>50</sub> est inversement proportionnel à l'activité antioxydante. On note que les extraits phénoliques testés découvrent des activités anti-radicalaires intéressante d'ordre microgramme. Les valeurs d'EC<sub>50</sub> des extraits d'acétate d'éthyle varie entre 38.69 et 2460.6 µg/mL et entre 19.81 et 418.06 µg/mL pour les extraits de di-éthyle éther.



Dans l'extrait de datte pour les deux fractions, on note une potentielle activité antioxydante et comparable avec les antioxydants standards, en particulier la fraction de di-éthyle éther qui enregistre une faible valeur d'EC<sub>50</sub>, à savoir qu'elle présente presque la même teneur phénolique que la fractions d'acétate d'éthyle. Donc une hypothèse pourrait être émise pour expliquer son potentiel est que les composés phénoliques présents du caractère moyennement polaire correspondent à ceux possédant des propriétés antioxydantes intéressantes. En outre, l'activité antioxydante de l'extrait de di-éthyle éther des dattes a été comparée à celle des antioxydants synthétiques et on peut dire supérieure à celles déterminée pour  $\alpha$ -tocophérol qui présente une valeur d'EC<sub>50</sub> est égale 22,13  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Boussoussa H., 2010).

D'autre part, nous avons tracé les courbes (figure 14) reliant les valeurs d'EC<sub>50</sub> avec les teneurs en phénols totaux et des flavonoïdes à fin d'élucider le type de corrélation entre ces paramètres et pour les deux fractions.



**Figure 16** : Variation des valeurs d'EC<sub>50</sub> en fonction des teneurs en phénols totaux.

D'après les tracés précédents, nous avons remarqué une corrélation positive entre la teneur en composés phénoliques et leur activité antiradicalaire dans les deux fractions. Ces tracés reflètent un seul ensemble des extraits ayant une activité antioxydante varie inversement avec le taux en phénols totaux avec un coefficient de corrélation  $R^2$  égale 0.99 pour les deux fractions (acétate d'éthyle et di-éthyle éther).

Ces résultats suggèrent que le pouvoir de balayage des radicaux libres est corrélé avec la présence des composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes (puisque la corrélation entre la teneur en phénols totaux et en flavonoïde est dépassée 81%). Alors, il est clair que les extraits qui renferment des teneurs phénoliques et notamment flavonoïdiques élevées présentent des pouvoirs antioxydants les plus faibles. Cela, implique qu'il n'y a pas une influence de la concentration sur l'activité antioxydante, mais c'est le type des molécules qui agit sur les radicaux libres.

En outre, l'évaluation de pouvoir antioxydant de nos extraits par un seul test de balayer les radicaux de DPPH<sup>•</sup> qui dépend à la capacité des extraits phénoliques à donner un électron / hydrogène pour apparier l'électron célibataire de DPPH<sup>•</sup> n'est pas suffisante et ne permet pas à aperçu tout les modes d'actions des composés de notre matière végétale étudiée; puisque chaque molécule a un mécanisme d'action spécifique selon sa conformation structural.

En raison de la complexité des matériaux anti-oxydants et leur mécanisme d'action, il est évident qu'aucune méthode de test unique n'est capable de fournir une image complète du profil d'un échantillon antioxydant étudié ainsi une combinaison de différentes méthodes est nécessaire. Malgré ces limites, le test DPPH<sup>•</sup> est une méthode qui peut être utile pour le dépistage primaire de nouveaux antioxydants pour d'éventuelles études approfondies.

# *Conclusion*

Ces dernières années ont connu une exploitation appréciable des palmiers, les fruits notamment. Divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique de la datte en: sucres, protéines, lipides, fibres, vitamines et minéraux. Toutefois, les études sur ses composants phénoliques restent peu nombreuses et ne concernent que quelques variétés étrangères dans leur majorité.

L'objet de notre travail a porté sur l'étude de la propriété antioxydante des extraits phénoliques de différents constituants de palmier dattier (la datte, le périlanthe, le pédicelle et la palme), variété Ghars.

En premier lieu, différentes étapes d'extraction et de fractionnement impliquant divers procédés et solvants ont été réalisées. Après extraction, nous avons essayé de quantifier la matière en phénols totaux, en flavonoïdes existant dans nos extraits. Les résultats montrent que notre échantillons sont relativement pauvre en ces composés; avec des teneurs qui varient de 0.01203 à 3.4733 mg en GAE/ gramme de la matière sèche, de 0.0026 à 0.9789 mg en RE / gramme de la matière sèche pour les phénols totaux et les flavonoïdes respectivement. Ces résultats dévoilent des pourcentages en flavonoïdes supérieurs à 20% pour la plus part des extraits par rapport à la masse des phénols totaux. Ainsi, on découvre une bonne corrélation entre les teneurs en phénols totaux et le contenu flavonoïdique des différents extraits.

Dans une seconde étape, nous nous somme penché sur l'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits qui a été réalisée par un test chimique *in vitro* comprenant un balayage contre le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, DPPH'. Les résultats de ce test ont montré une activité antioxydante intéressante chez la plus part des extraits testés avec des valeurs d'EC<sub>50</sub> comprise entre 19.81 et 2460.62 µg/ml.

L'ensemble de ce travail confirme de façon irréfutable l'activité antioxydante intéressante des extraits phénoliques des différents constituants étudiés de palmier dattier en particulier les dattes.

En conclusion, l'ensemble de ces résultats obtenu *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substance de source naturelle biologiquement active capable de balayer les radicaux libres. Des essais complémentaires seront donc nécessaires pour caractériser les molécules responsables à ces activités, afin qu'elles puissent être utilisées pour de diverses études pharmacologiques.

En perspective de ce travail, il serait intéressant d'isoler et de caractériser les composés phénoliques des extraits d'acétate d'éthyle et de di-éthyle éther des différents constituants étudiés de *Phoenix Dactylifera L.* et avec autres variétés en appliquant des techniques chromatographiques et spectroscopiques lourdes. Aussi, il serait souhaitable, pour une meilleure compréhension du mode d'action des molécules phénoliques isolées, d'évaluer *in vitro* et *in vivo* l'activité antioxydante de chacun de ces composés pris séparément. Ce qui permettrait alors de mettre en évidence le principe actif des extraits et/ou une éventuelle synergie entre les différents composés phénoliques.

# *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Akunna GG., Saalu C.L. , Ogunmodede O.S., Ogunlade B., BELLO A.J., 2012. Aqueous Extract of Date Fruit (Phoenix Dactylifera) Protects Testis against Atrazine-induced Toxicity in Rat. World J Life Sci. and Medical Research, volume 2(2):100.
- Amiot M - J., Fleuriet A., et Macheix J - J., 1986. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Volume 34 (5), p 823-826.
- Bahorun T., 1997. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, AMAS. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, p 83-94.
- Bahorun T., 1997. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, p 83-94.
- Balasundram N., Sundram K. et Samman S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, p 191–203.
- Baskin S.I and Salem H., 1994. Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. Academic press Inc, volume 363, p 25-62.
- BehijaSaafi E., Louedi M., Elfeki A., Zakhama A., Fadhel Najjar M., Hammamia M., Achour L., 2011. Protective effect of date palm fruit extract (Phoenix dactylifera L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. Experimental and Toxicologic Pathology, volume 63, p 433–441.
- Benseguni A., 2007. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase, Thèse ; Univ de Mentouri Constantine, 91 pp.
- Berger M.M., 2006. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutrition clinique et métabolisme, volume 20, p 48–53.
- Bhooshan Pandey K. and Ibrahim Rizvi S., 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, p 270-278.

- Boizot N. et Charpentier J – P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, INRA – Amélioration génétique et physiologie Forestières, Laboratoire d'analyses biochimiques, le cahier des technique de l'INRA, p 79, 80.
- Boizot N., Charpentier J.-P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA. numero spécial.
- Boussoussa H., 2010. Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des fleurs de *Rhanterium adpressum*. Thèse de Magister, Université Amar Telidji, p 40.
- Brand Williams W., Cuvelier M. E. and Berset C., 1994. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *lebensm-wiss-techno*, p 25-30.
- Brouillard R. and Délaporte B., 1997. *J.Am. Chem. Soc.* p 8461-8468.
- Buer C. S., Imin N. and Djordjevic M.A., 2010. Flavonoids: New Roles for Old Molecules. *Journal of Integrative Plant Biology*, p 98-111.
- Clarkson P.M et Thompson H.S., 2000. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Journal Clinical Nutrition*, volume72, p 637–46.
- Contini M., Baccelloni S., Massantini R. et Anelli G., 2008. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Journal Food Chemistry*, volume 110, p 659–669.
- Croft K. D., 1999. Antioxidant effects of plant phenolic compounds. *antioxidant in human health*, p 109-121.
- Delbart C., 2000. Les mitochondries « biologie et incidence physiopathologique », Ed ; Tec et Doc, 169 pp.
- Djerbi M., 1994. Précis de phéniculture, F.A.O, Rome. p 191 .
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards JF. and Stocker P., 2007. Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, p 801-809.
- Dutta Gupta S., 2011. *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants*, CRC press, 362 pp.
- Edeas M., 2009. Anti-oxydants, controverses et perspectives : comment expliquer l'échec des études cliniques utilisant des anti-oxydants, *Journal de la société de biologie*, 271-280 pp.



- Falah H., Ksouri R. et Abdely C., 2006. Activité antioxydante et contenu en polyphénols dans les différents organes de l'artichaut sauvage, *Cynara cardunculus*. revue des region arides - numero spécial – actes du séminaire international < les plantes à parfum, aromatiques et médicinales>.
- FAO, 2007. Date palm production. [www.fao.org/docrep/t0681E//t0681E00.htm](http://www.fao.org/docrep/t0681E//t0681E00.htm).
- Ferguson L.R., 2001. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, volume 475, p 89 - 111.
- Ferguson L.R., 2001. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, volume 475, p 89 - 111.
- Genestra M., 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, volume 19 (9), p1807-1819.
- Ghedira K., 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, Numéro 4, p 162-169.
- Gonçalves R., Mateus N., Freitas V. d., 2011. Inhibition of a-amylase activity by condensed tannins. *Food Chemistry*, volume 125, p 665–672.
- González M. E., Chandra S., Ramírez-Mares M. V. and Wang W., 2006. Catalytic inhibition of human DNA topoisomerase by phenolic compounds in *Ardisia compressa* extracts and their effect on human colon cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. Volume 44 (8), 1191-1203.
- Goudable J. et Favier A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, volume 11, p 115-20.
- Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. et Bernigault R., 2005. Mesure de la résistance aux radicaux libres : une nouvelle voie pour la production et la selection avicole ?. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*, volume 554, p 30 – 31.
- Halliwell B., 2009. The wanderings of a free radical. *Free radical biology & Medicine*, volume 46, p 531-542.
- Halliwell B., Gutteridge J.M., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. , volume, p 186:1-85.
- Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E. et Vivanco J.M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Journal of Food Chemistry*, volume 83, p 547–550.

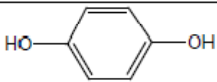
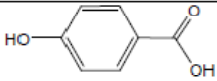
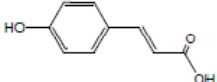
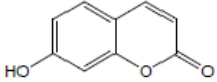
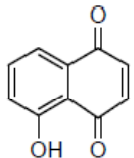
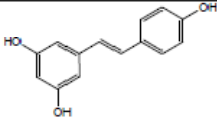
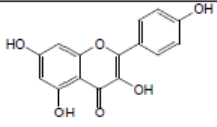
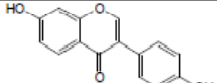
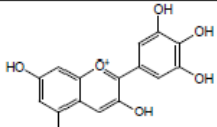
- Koç E., Dslek C., et Ustun A. S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties. *Journal of Science*, volume 23(1), p 1-6.
- Koechlin-Ramonatxo C., 2006. Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, volume 20, p165-177.
- Kone D., 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales Maliennes « extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de poly phénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat, Univ Bamako, 188 pp.
- Krishnaiah D., Sarbatly R. et Nithyanandam R., 2010. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, article in press.
- Ksouri R., Falah H. et Abdelly C., 2006. Contenu en polyphénols et activité antioxydante d'une halophyte, *Tamarix gallica* L. *Revue des régions arides - numero spécial – actes du séminaire international < les plantes à parfum, aromatiques et médicinales >*.
- Lhuillier A., 2007. Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia*, Hook.F ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* baker (Myrsinaceae). Thèse doctorat.
- Louis Léger C., 2006. Anti-oxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action anti-oxydante, interactions. *OCL*, p 59-69.
- Machiex J. J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005. Composés phénoliques des végétaux. *Presses polytechniques et universitaires Romandes*.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P., 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chem.*, volume 89, p 411- 426.
- Mantas A., Deretey E., Ferretti F.H., Estrada M.R. et Csizmadia I.G., 2000. Structural analysis of flavonoids with anti-HIV activity. *Journal of Molecular Structure: Theochem*, volume 504 (1-3), p 171-179.
- Marais J. P.J., Deavours B., Dixon R. A. and Ferreira D., 2006. *The Science of Flavonoids*. *Library of Congress*, p 273.

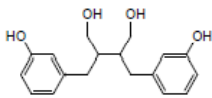
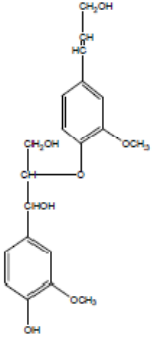
- Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M. et Fritsch P., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments.
- Marfak A., 2003, Radiolyse gamma des flavonoïdes: étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. p 30-40.
- Martin S. and Andriantsitohaina R., 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, volume 51, p 304–315.
- Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère.
- Moulay Hassan S., 1973. Le Palmier Dattier base de la mise en valeur des oasis au Maroc Techniques phoénicoles et Création d'oasis. INRA-Editions, ISBN : 9981-1994-3-5.
- Moure A., Cruz J.M., Franco D., Dominguez J. M., Sineiro J., Dominguez H., Nuriez M. J., Parajo J.C., 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, volume 72, p 145±171.
- Petti S. and Scully C., 2009. Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of Dentistry*, volume 37, p 413 – 423.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. et Defraigne J.O., 2002. Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, volume 16, p 233-239.
- Rees S. et Harbone G., 1985. The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochimie*. Volume 24, p 2225-2231.
- Reynertson K.A., Yang H., Jiang B., Basile M.J. et Kennelly E.J., 2008. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*, volume 109, p 883–890.
- Riedacker A., 1990. *Physiologie des arbres et arbustes en zone aride*. Ed .J. Libbey, Paris p 323-327.
- Rolland Y., 2004. Antioxydants naturels végétaux. OCL, p 419- 425.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A and Saura-Calixto F., 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J Sci food Agric*, p 270-276.
- Shahin Sharif A., Naresh K., Abhinav L., Angad S., Hallihosur S., Abhishek S. et Utpal B., 2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Journal of Food Research International*, volume 41, 1–15.

- Siddhuraju P. and Manian S., 2007. The antioxidant activity and free radical scavenging capacity of dietary phenolic extracts from horse gram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) seeds. *Food Chemistry*; p 950–958.
- Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C., 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free radical biology and medicine*, volume 33, p 575-586.
- Sorg O., 2004. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, volume 327, p 649-662.
- Tri Vuong P., 2009. Activités antidiabétiques et neuroprotectrices du jus de bleuet biotransformé. Thèse ; Univ de Montréal, p 190.
- Zhang L-L., Lin Yi-M., Zhou Hai-C., Wei Shu-D. and Chen Jia-H., 2010. Condensed Tannins from Mangrove Species *Kandelia candel* and *Rhizophora mangle* and Their Antioxidant Activity. *Molecules*; p 420-431.

# *Annexe*

Tableau : Les principales classes des flavonoïdes.

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïque	Acides p-hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide coumarique		Tomates, ai
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Napthoquinones	Juglone		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-Resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	Flavonoides	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoides	Daidzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon

(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines	Ether coniférylique du gaïacylglycérol		Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tanins condensés	Procyanidol		Raisins, kaki