

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

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



N° :...

DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : SCIENCES BIOLOGIE
OPTION : BIODIVERSITE ET
PHYSIOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention
du diplôme de Master Académique
Biodiversité et Physiologie Végétale

Par:

RAHMOUNI Khedidja

Intitulé

**Activité antimicrobienne des extraits de datte
des trois variétés de palmier dattier
Phoenix dactylifera L. de la région de Boussaâda**

Soutenu devant le jury composé de:

SARRI Djamel	MCB	Université de M'Sila	Président.
BENMEHAIA Radhouane	MCB	Université de M'Sila	Rapporteur.
GHADBANE Mouloud	MCA.	Université de M'Sila	Examineur.

Année universitaire : 2018 /2019

Dédicaces

A mes parents

ma Mère et à mon Père

A mon époux Mohamed

A ma sœur Asma et mon frère Moussa

A toute ma famille

A toutes mes amies

Je dédie ce travail



Remerciement

Avant tout, je remercie ALLAH pour m'avoir donné la volonté, le courage, la sante, la force et la patience pour d'accomplir de ce modeste travail.

Je remercie mon encadreur M. BENMEHAJA Radhouane pour les orientations, l'encouragement et les fructueux conseils. Merci aussi pour son aide et son regard critique qui m'ont été grandement utiles au cours de mon mémoire et lors de la rédaction de mon manuscrit.

Je remercie M. SARRI Djamel pour l'honneur qu'il m'a fait pour présider le jury. Et M. GHADBANE Mouloud Pour avoir de faire partie du jury d'examination

Je remercie également Monsieur BELKASSAM A. et Monsieur HARIR M. pour l'effort qui m'ont fournit durant les travaux aux laboratoire

Je remercie aussi tout les ingénieurs de laboratoire de département de Science de nature et de vie.

En fin, je tiens à remercier mes parents, mes frères, mon oncle, mon cousin, mes amies et sans oublier toute personne ayant contribué de pré ou loin à la réalisation de ce modeste travail.

Merci.

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Chapitre I : Revue bibliographique.....	2
I.1. Généralité.....	2
I.2. Nomenclature.....	3
I.3. Aspects botaniques et la morphologie du palmier dattier.....	3
I. 3.1. Système racinaire.....	3
I.3.2. Système végétatif	4
I.3.2.1. Stipe.....	4
I.3.2.2. Palmes.....	5
I.3.3. Système floral.....	5
I.3.3.1. Fleurs mâles.....	5
I.3.3.2. Fleurs femelles.....	6
I.3.3.3. Fruit.....	7
I.4. L'utilisation le palmier-dattier quelque soit l'arbre ou le fruit.....	8
I.5 Activité antibactérienne.....	9
I.5 1. Propriété antibactérienne.....	9
I.5.2. Les micro-organismes.....	9
I.5.3. Les antibactériennes.....	9
I.5.4. Les méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	10

Chapitre II : Matériel et méthodes.....	11
II.1. Présentation de zone de prélèvement.....	11
II.2. Matériels biologiques.....	12
II.3. Méthodes d'étude	12
II.3.1. Extraction éthanolique.....	12
II.3.2. Analyse phytochimiques de l'extrait par Chromatographie sur couche mince	14
II.3.3. Etude de l'activité antimicrobienne.....	16
Chapitre III : Résultats et discussions.....	19
III.1. Etude biochimiques et microbiologiques.....	19
III.1.1. Calcul des rendements.....	19
III.1.2. Test phytochimique par CCM.....	19
III.1.3. Etude l'activité antibactérienne.....	22
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Systèmes d'élution pour la CCM.....	15
Tableau 02 : Souches bactériennes utilisées dans l'activité antibactérienne.....	16
Tableau 03 : Rendements des l'extraits de datte étudiés.....	19
Tableau 04 : Résultats de facteur de rétention(Rf) de test CCM.....	21
Tableau 05 : Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (D).....	22
Tableau 06 : Diamètre des zones d'inhibitions (en mm) par dépôt de 15µl des extraits à concentration [100mg/ml].....	23
Tableau 07 : Diamètre des zones d'inhibitions (en mm) par dépôt de 15µl des extraits à concentration [500mg/ml].....	25

Listes des figures

Figure 01: Un pied de palmier dattier.....	02
Figure 02: Schéma présenté la morphologie du palmier dattier.....	04
Figure 03: Schéma d'une palme.....	05
Figure 04: Schéma de spathe, fleur et diagramme florale mâle et femelle de dattier.....	06
Figure 05: Spathe male sur pied.....	06
Figure 06: L'appareil reproducteur mâle et femelle de dattier.....	07
Figure 07: Schéma présenté le fruit et la graine de dattier.....	07
Figure 08: Localisation géographique de site de l'échantillonnage.....	11
Figure 09: Etapes de préparation les échantillons.....	12
Figure 10 : Protocole expérimental de préparation de l'extrait éthanolique de datte.....	13
Figure 11 : Etapes de préparation pour séparation les extraits éthanoliques par CCM.....	16
Figure 12 : Méthode de diffusion des disques sur milieu solide.....	18
Figure13 : Plaques CCM sous la lampe UV.....	20
Figure 14 : Les résultats du test de sensibilité microbienne à les extraits de concentration 100mg/ml.....	24
Figure 15 : Les résultats du test de sensibilité microbienne à les extraits de concentration 500mg/ml.....	26
Figure 16 : Les résultats du test de sensibilité microbienne à les extraits de concentration 500mg/ml.....	27

Liste des abréviations

ATCC: American type culture collection

CCM: Chromatographie sur couche mince

DMSO: Diméthylsulfoxyde

g: Gramme

ml: Millilitre

mm : millimètre

h : heure

°C: Degré Celsius

Rdt: Rendement.

UV : Ultras violet

Var : variété

µl: microlitre

% : pourcentage

L : Linné

Rf : facteur de rétention

D.N : Déglet-Nour

G : Ghars

M.D: Mech-Degla

S: Système

T⁺ : Antibiotique gentamicine

Introduction

Introduction

Phoenix dactylifera L., communément appelé le palmier dattier, est une plante cultivée depuis des siècles pour ses fruits comestibles dans l'oasis du désert du monde arabe. Les dattes sont riches en termes de glucides, de certaines vitamines, elles constituent également une excellente source de fibres alimentaires et contiennent des quantités considérables de minéraux, de lipides et de protéines. En plus de son utilisation diététique. (Baliga et al., 2011).

Le palmier dattier est très exploité dans l'Afrique méditerranéenne, le Moyen-Orient, l'Asie de l'Ouest et les Etats-Unis. C'est la principale source de revenus des pays de ces régions. Son exploitation intéresse de nombreux secteurs de leur économie, dont celui de l'alimentation. (Booij et al., 1992).

La palmeraie de Boussaâda est l'une des palmeraies traditionnelles algériennes, elle se caractérise par son organisation en 3 strates de cultures: les palmiers dattiers, des arbres fruitiers ou arbustes et des cultures céréalières, fourragères ou maraîchères. Les palmeraies de Boussaâda dans les années passées, avaient une diversité variétale et une valeur nutritive très importante en Algérie. Mais, sont aujourd'hui menacées de disparition par l'influence de plusieurs facteurs naturels et humains ayant aboutis à la dégradation progressive d'une grande partie de cette palmeraie (Abdelkrim et al., 2008).

Le but de notre travail est d'évaluer la propriété antibactérienne des extraits de trois variétés de fruits de *Phoenix dactylifera* L. par la méthode des zones d'inhibition. Ce travail comprendra deux parties :

- La première partie, concernera une bibliographie sur la morphologie du palmier dattier
- La seconde partie, consacrée à la partie pratique qui évalue l'activité antimicrobienne des extraits de trois variétés de fruits de *Phoenix dactylifera* L.

Chapitre 01
Revue
bibliographique

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. Généralité

Le palmier dattier est une plante fruitière ancienne, elle constitue la principale espèce cultivée du Sahara, celle qui fournit l'essentiel de la nourriture de la population et la seule qui donne lieu à un commerce d'exportation. Cette culture, qui exige beaucoup d'eau, et qui est installée soit le long des Oueds, soit autour des puits, parfois l'existence d'une nappe d'eau à faible profondeur permet à l'arbre de trouver lui-même son eau dans le sol (**Ozenda, 1991**).

Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. est considéré comme l'une des cultures de base les plus anciennes du Sud-ouest d'Asie et d'Afrique du Nord (**Al-Alawi et al., 2017**).

En l'état actuel des connaissances, les seules caractéristiques morphologiques du palmier dattier ne permettent pas de distinguer de façon fiable les différents cultivars entre eux. Il faut attendre 4 à 5 ans pour obtenir les données pomologiques à partir de la première fructification et pour pouvoir analyser la composition chimique des fruits. Ces données sont des critères principaux de reconnaissance des cultivars (**Booij et al., 1992**).



Figure 01: Un pied de palmier dattier.

I.2. Nomenclature

La dénomination donnée au palmier dattier depuis 1743 par Linné est *Phoenix dactylifera* L. (Abdallah, 1990).

Qui décrit la signification de *Phoenix dactylifera* L. dans la l'étymologie, du mot "*Phœnix*" dérive de nom de Dattier chez les Grecs, qui considéraient comme l'arbre des phéniciens et "*dactylifera*" vient de latin "*dactylus*" dérivant du grec dactylis, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit. (Absi, 2013).

Le palmier dattier nommé "date palm" en Anglais, "nakhil" ou "tamr" en Arabe, en Afar, et en Somali, mais dans tout les pays, il porte le même nom latin, *Phoenix dactylifera* (Peyron, 2000). Le genre *Phoenix* appartient à la famille des *Arecaceae* (anciennement, *Palmaceae*) comprend environ 2500 espèces (Dransfield et al., 2008). Le Palmier Dattier est une espèce appartenant au genre *Phoenix* qui comprend douze (12) espèces botaniques (Moore, 1973).

I.3. Aspects botaniques et la morphologie du palmier dattier

En générale les palmées, leur feuilles disposées en bouquet terminal; entières puis lacérées, paraissant alors pennées ou palmées. Inflorescence renfermée dans une spathe. Le clé de genre *Phoenix* L. c'est leur feuilles pennées, c'est une plante a tronc élancé, pouvant atteindre 30m, revêtu de feuilles desséchées dans les individu sauvages. Fruits oblongs ou cylindrique, tres variable. Cultivé dans toute la région saharienne et subspontanée çà et là dans le Tell-Palmier dattier, Nekla (Quezel et Santa, 1962).

Le palmier dattier est une monocotylédone arborescente considérée comme une herbe géante pour ses caractéristiques morphologiques. On distingue quatre parties : les racines, le stipe, les feuilles et l'appareil reproducteur. (Abbouna et Nechachbi, 2017).

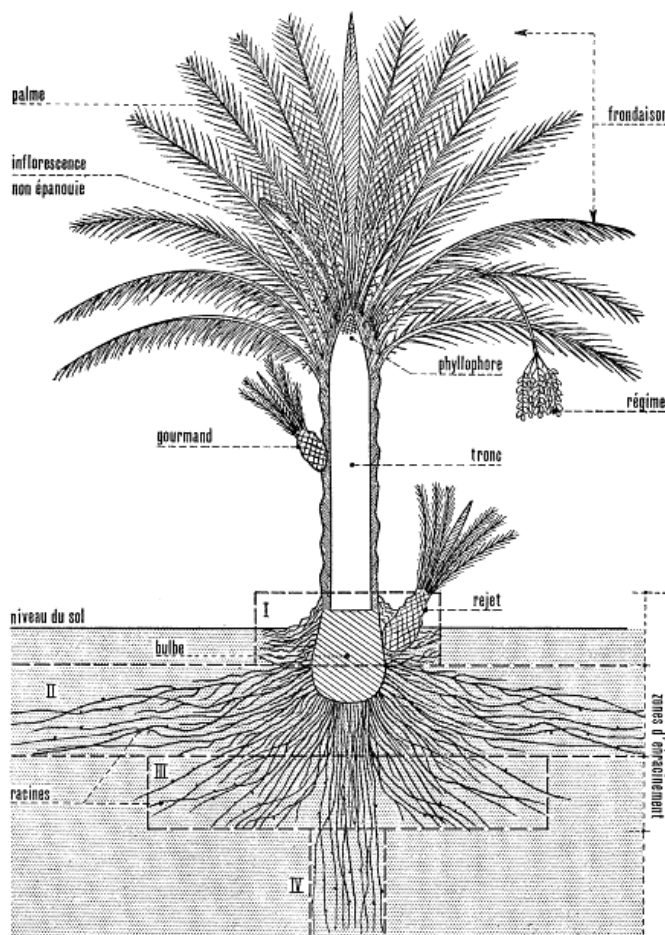
I. 3.1. Système racinaire

Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. est une monocotylédone arborescente à système racinaire très développé comprend une racine primaire unique et temporaire et des racines secondaires grêles, longues, obliques ou horizontales, parfois aériennes, mais généralement noyées dans une masse spongieuse de racines mortes (Toutain, 1967).

Selon Munier (1973) le système radical du dattier est fascicule, les racines ne se ramifient pas et n'ont relativement que peu de radicelles. Le bulbe, ou plateau racinal, est volumineux

et émerge en partie au-dessus du niveau du sol. Le système présente quatre types d'enracinement

-Racine respiratoire, racine de nutrition, racine d'absorption, racines du faisceau pivotant



- I. Zone des racines respiratoires;
- II. Zone des racines de nutrition;
- III. Zone des racines d'absorption;
- IV. Zone des racines du faisceau pivotant.

Figure 02: Schéma présentant la morphologie du palmier dattier (Munier, 1973).

I.3.2. Système végétatif

I.3.2.1. Stipe

Le stipe monopodique qui contient des faisceaux libéroligneux qui semblent relier directement chaque racine à une palme bien déterminée. Le stipe est couvert régulièrement des cicatrices des anciennes palmes (Toutain, 1967).

Selon Munier (1973) le stipe peut atteindre et dépasser 20m de haut, généralement cylindrique au-dessus de sa région basale. Cependant, celui de certains cultivars, le Ghars de l'Algérie notamment, peut être de forme tronconique. L'élongation du tronc s'effectue dans sa partie coronaire par le bourgeon terminal ou phyllophore. Chez les jeunes sujets, le tronc est

recouvert par la base des pétioles des anciennes palmes et, dans l'interstice de ceux-ci, par une bourre fibreuse: le fibrillum. Chez les sujets âgés le tronc est nu et le fibrillum n'existe que dans la partie coronaire. A l'aisselle de chaque palme, se trouve un bourgeon adventif ou axillaire qui, en se développant, peut donner naissance à une inflorescence dans la région coronaire, à un rejet dans la région basale, et à un gourmand dans le région moyenne et sous-coronaire. Le stipe ne se ramifie pas, mais le développement des gourmands ou des rejets peut donner naissance à des pseudo-ramifications.

I.3.2.2. Palmes

Les palmes (Djerid) sont insérées, en hélices très rapprochées, sur le stipe par une gaine pétiole bien développée (cornaf) enfouie dans un fibrillum, feutrage appelé Lif; leur pétiole (rachis) est semi-cylindrique, épineux vers la base (chouque) et constamment dur ; le limbe, entier et fripé au début de la croissance, se développe ensuite, découpé en folioles ; sa nervation est pennée. Le limbe des folioles, à cuticule épaisse, est toujours coriace et recouvert d'une mince couche de cire : la nervure de chaque foliole fait saillie à la face inférieure ; les folioles sont redupliquées. Les palmes peuvent mesurer de 2 à 6 mètres de longueur et vivent de 3 à 7 ans. On en compte de 50 à 200 par arbre environ (Toutain, 1967). Selon Munier (1973) les palmes sont issues du bourgeon terminal. Chaque année, il en apparait de 10 à 20, jusqu'à 30.

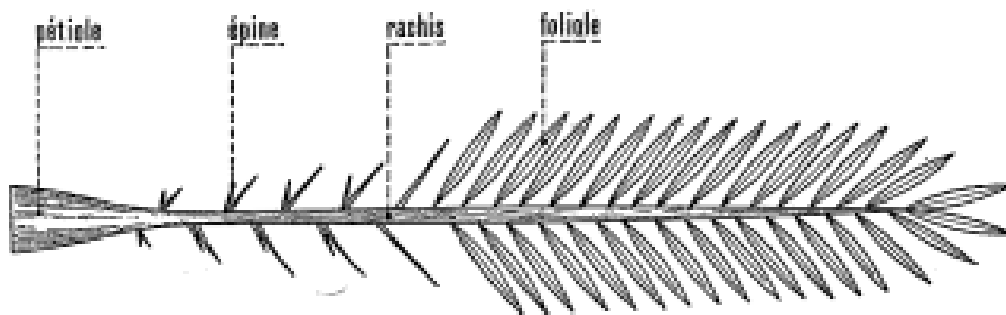


Figure 03: Schéma d'une palme (Munier, 1973).

I.3.3. Système floral

Le palmier dattier est une plante dioïque dont l'inflorescence très caractéristique est une grappe d'épis. Les fleurs sont sessiles et insérées sur un axe charnu ramifié. L'ensemble est entouré d'une gaine: la spathe (Toutain, 1967).

I.3.3.1. Fleurs mâles

Les fleurs mâles possèdent six étamines à déhiscence interne, elles ont une odeur caractéristique rappelant un peu l'anis (Toutain, 1967).

I.3.3.2. Fleurs femelles

Les fleurs femelles, l'ovaire comporte en général trois carpelles libres ; chacun d'eux renferme un ovule anatrophe basilaire-axile ($2n = 36$); beaucoup de ces ovules avortent, un seul ovule par fleur est fécondé et un seul carpelle se développe. Les fleurs femelles sont inodores (Toutain, 1967).

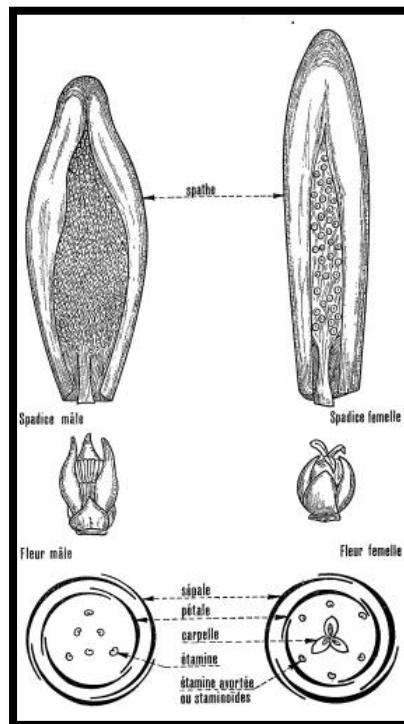


Figure 04: Schéma de spathe, fleur et diagramme florale mâle et femelle de dattier (Munier, 1973).



Figure 05: Spathe male sur pied (Babahani et Bouguedoura, 2009).



Spathe de palmier



inflorescence mâle



inflorescence femelle

Figure 06: L'appareil reproducteur mâle et femelle de dattier.

I.3.3.3. Fruit

Le fruit du dattier, la datté, est une baie contenant une seule graine (noyau) (Sedra, 2003). La datté est constituée d'un mésocarpe charnu, protégé par un fin péricarpe; le noyau est entouré d'un endocarpe parcheminé, il est de forme allongée, plus ou moins Volumineux, lisse ou pourvu de protubérances latérales en arêtes ou ailettes, avec un sillon ventral; l'embryon est dorsal, sa consistance est dure et cornée.

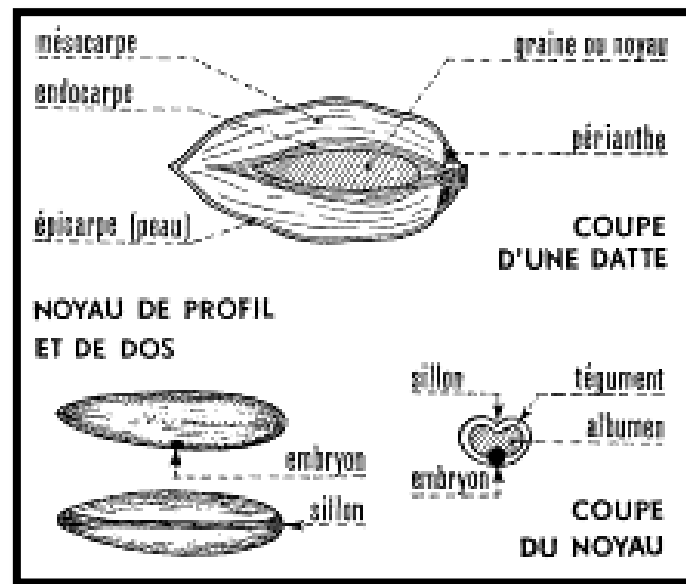


Figure 07: Schéma présenté le fruit et la graine de dattier (Munier, 1973).

La couleur de la datte est variable selon les espèces: jaune plus ou moins clair, jaune ambre translucide, brun plus ou moins prononcé, rouge ou noir. Le péricarpe, le mésocarpe et l'endocarpe sont confondus par les conditionneurs sous l'appellation de chair ou pulpe. Les dattes sont généralement allongée, oblongue ou ovoïde, mais il en existe cependant quelques-unes pratiquement sphériques, leur dimensions sont très variables, d'un centimètre et demi à sept ou huit centimètres de longueur, et d'un poids de deux à sept ou huit grammes. Leur consistance peut être molle (Ghars) ou demi-molle (Deglet-Nour) ou sèche (Mech-Dagla) (Munier, 1973).

Chaque étape de la maturation de la datte a été identifiée nominalement, ce qui permet de suivre l'évolution du fruit au cours de son développement. Les expressions utilisées sont celles de la nomenclature irakienne (Munier, 1973):

-le stade Habbabouk suit la pollinisation,

-Le stade kimri (k) est caractérisé par le grossissement des dattes (augmentation du poids et du volume), un taux d'humidité élevé, une accumulation de sucres réducteurs et une très forte acidité,

-le stade Kalal (K) est caractérisé par une augmentation rapide de la teneur en sucres totaux, du saccharose et de la matière solide, alors que l'acidité réelle et le taux d'humidité décroissent,

-au stade Routab(R), la datte devient molle et perd son astringence (les tanins sous la peau précipitent sous forme insoluble),

- le stade Tamar (T) ou Mûr (M) correspond à l'étape finale de la maturation du fruit; la datte a alors perdu presque toute son eau.

I.4. L'utilisation le palmier-dattier quelque soit l'arbre ou le fruit

Ont plusieurs utilisation; parmi les quelles:

-Le vinaigre, l'alcool et les levures, par fermentation microbiologique des dattes communes

-La farine de datte utilisée dans la panification

-Le jus de dattes, par extraction, utilise comme sucrerie

-Le tronc d'arbre, utilisé dans l'ébénisterie traditionnelle, comme bois de chauffage et charpentes de bâtiments

-Les palmes sèches, utilisées comme clôtures, brises vent ou dans la confection de couffins, de chapeau, de paniers.

-les régimes de datte, comme balais traditionnels, et comme combustibles

-le Lif pour la confection des semelles de sandales, des cordes, des filets (**Chehma et al., 2001**).

I.5 Activité antibactérienne

I.5 1. Propriété antibactérienne

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire. (**Touafek, 2010 in Ait baziz et Chemali, 2017**)

I.5.2. Les micro-organismes

Un microbe ou micro-organisme est un organisme vivant autonome, généralement unicellulaire, invisible à l'œil nu. Les protozoaires, les champignons microscopiques, les bactéries et les virus sont des microbes (**Prigent-Combaret et lejeune., 1999 in Ait bazizetChemali , 2017**). Appelés protistes, divisés en deux grandes catégories selon leur structure cellulaire : les protistes supérieurs ou eucaryotes et les protistes inférieurs ou procaryotes. (**Sablionière, 2006 in Ait baziz et Chemali, 2017**)

I.5.3. Les antibactériennes

I.5.3.1. Les antibiotiques

Du grec anti, "contre" et bios, "vie", les antibiotiques sont des composés chimiques ayant la propriété de tuer ou d'empêcher la prolifération des micro-organismes pathogènes. Certains sont des substances produites naturellement par les moisissures et bactéries. (**Salbonière, 2006 in Ait baziz et Chemali , 2017**)

I.5.3.2. Les composés phénoliques

La phytothérapie est l'art de se soigner par les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Sofowora, 2010 in Ait bazizet Chemali, 2017**). Les recherches récentes sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques notamment l'activité antimicrobienne. (**Middleton et al., 2000; Ksouri et al., 2007**)

I.5.4. Les méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique est la CMI. Elle correspond à la concentration minimale qui inhibe la croissance visible du germe en 24h. Parmi les méthodes applicables dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne : la dilution en milieu liquide (croissance bactérienne appréciée par l'apparition d'un trouble) ; la diffusion sur disque de cellulose (bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique). (**Burnichon et al., 2003 in Ait baziz et Chemali, 2017**)

I.5.4. 1. Méthode de diffusion en milieu solide

Cette méthode consiste à la diffusion d'un antibiotique dans des puits de 6 mm de diamètre et 3 mm de profondeur avec un puits témoin, creusés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Muller Hinton, après avoir été ensemencées par une suspension bactérienne. Ensuite une incubation à 37°C est faite pendant 18 à 24h. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (**Menasria, 2014 in Ait baziz et Chemali, 2017**).

I.5.4. 2. Autres méthodes d'évaluation de l'activité bactérienne

Il existe d'autres méthodes d'évaluation de l'activité bactérienne, parmi les quelles on cite la méthode de dilution en milieu liquide et la méthode de diffusion sur disque de cellulose. (**Ait baziz et Chemali, 2017**)

Chapitre 02

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

Ce travail a été effectué au laboratoire de biologie végétale du département de S.N.V. de l’université Mohamed Boudiaf-Msila.

II.1. Présentation de zone de prélèvement

Cette étude a porté sur trois variétés de dattes; Déglet-Nour, Ghars et Mech-Degla collectées de palmier dattier *phœnix dactylifera* L.de la région de Boussaâda (Mâadar), la Wilaya de M’sila.

La région de Bousaâda se situe au sud-est du nord algérien (4° 11’N, 35° 13’E) et 560 m d’altitude, à superficie 249,34 km²

Elle se situe entre le littoral algérien et le désert et, plus exactement, entre la steppe du Hodna et les monts des Zibans. Elle est enserrée par deux montagnes dont la direction est nord-est sud-ouest. L’étage bioclimatique de la région est aride.



Figure 08: Localisation géographique de site de l’échantillonnage Bou-Saâda Mâadar M sila (Google maps, 2019).

II.2. Matériels biologiques

Les trois variétés de dattes; Déglét-Nour, Ghars et Mech-Degla ont été récoltées au stade final de maturation; stade «Tamar» et ont été conservé dans la température ambiante. A l'arrivée au laboratoire, les fruits matures de chaque variété, exempts de dommages physiques, d'attaque d'insectes et d'infections fongiques, ont été choisis, les échantillons a été ensuite rincé abondamment à l'eau du robinet pour éliminer la poussière puis à l'eau distillé. Elles sont alors séchées à une température ambiante. Après séchage, dénoyautage et découpage, les échantillons sont broyés dans un mortier (c'est le cas de Mech-Degla) et épaté manuellement à l'aide d'un outil de cuisine pour les deux autres variétés.

Les pâtes obtenues sont maintenues au frais jusqu'au moment de leur utilisation.



Figure 09: Etapes de préparation des échantillons.

II.3. Méthodes d'étude

A fin d'effectuer les analyse nécessaire, nous avons tout d'abord préparé les extraits selon le protocole suivant.

II.3.1. Extraction éthanolique

L'extraction par solvant consiste à séparer les constituants d'un mélange à l'aide d'un solvant qui s'évapore facilement (éthanol). Le solvant extrait les molécules grâce à sa forte affinité avec elles, l'extraction éthanolique se fait par trois étapes nécessaires: macération, filtration et évaporation à l'aide évaporateur rotatif (rotavapor).

A. Macération

Nous avons pris 20g de pâte de date, en utilisant le volume d'éthanol dilué 200ml (160ml éthanol -40ml eau distille) pour donner un mélange de l'échantillon et le solvant à chaque fois pour les trois variétés, qui sont agiter ensuite, on à laissé le mélange pendant trois jours.

B. Filtration

Après trois jours, on à filtré les mélanges que nous avons déjà macéré par papier filtre Whatman.

C. Evaporation

A l'aide évaporateur rotatif (rotavapor) évaporer la solution filtré a température 40 °C et rotation 4 jusqu'à ce qu'a éliminer le solvant pour obtenir l'extrait brute.

Et voici un schéma qui récapitule les opérations précédentes (figure 10).

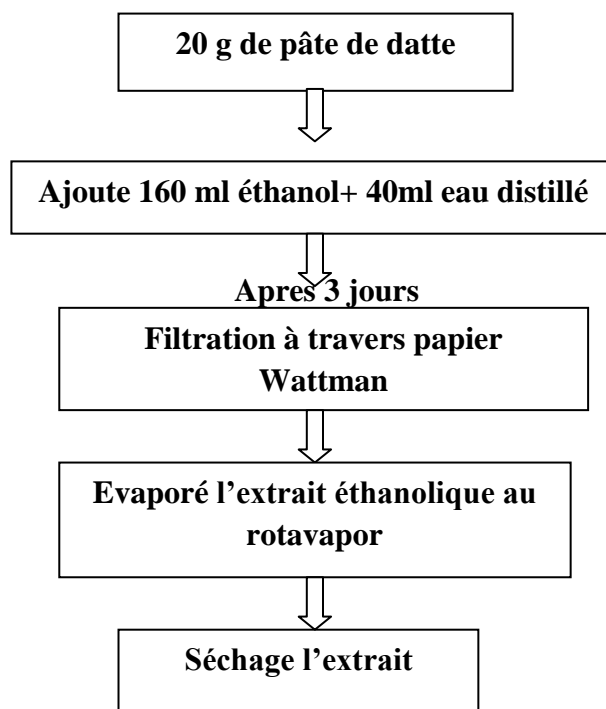


Figure 10 : Protocole expérimental de préparation de l'extrait éthanolique de date.

Après l'extraction, on a déposé l'extrait dans une boîte de Pétri en verre à l'air libre et à température ambiante pour garantir le séchage de reste de l'éthanol et/ou l'eau distillée.

II.3.1.1. Rendement de l'extrait

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

$$\text{Rdt(\%)} = \frac{m}{M} \times 100$$

m : poids de l'extrait après l'évaporation.

M : poids de datte (pâte) de départ.

II.3.2. Analyse phytochimiques de l'extrait par Chromatographie sur couche mince (CCM)

L'identification des phytoconstituants d'extrait végétaux se fait par chromatographie sur couche mince (CCM), technique simple et rapide qui permet de mettre en évidence les différentes familles de métabolites secondaires recherchées.

La chromatographie sur couche mince (CCM) met en jeu des phénomènes physico-chimique, basé sur le pouvoir d'adsorption. Elle correspond à une phase mobile (éluant) formée par un/ou un mélange de solvants et une phase stationnaire étalée sur une couche d'aluminium et sur laquelle est déposée une goutte de l'extrait dissous avec un peu de chloroforme.

La vitesse de progression de chacun des constituants du mélange entraîné par le solvant (par capillarité de long de la plaque) n'est pas la même. par conséquent, il se forme des spots révélés les ondes de l'UV ou de réactifs colorés.

II.3.2.1. Protocole expérimental

- On a utilisé les morceaux de plaque CCM de 10 cm de long en laissant 1 cm du haut et du bas de chaque plaque.
- Des dépôts de gouttes d'extrait éthanolique à l'aide de pipette Pasteur en séchant bien entre les dépôts.
- On a préparé les systèmes que nous allons utiliser qui sont 5 systèmes, et sont reportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 01 : Systèmes d'éluant pour la CCM.

Système 01	Chloroforme-éthanol. (CHCl ₃ . C ₂ H ₅ OH)	3-1ml 1-1ml 9-1ml
Système 02	Hexane -CHCl ₃ -C ₂ H ₅ OH	7-4-0.5ml
Système 03	CH ₂ Cl ₂ - C ₂ H ₅ OH	4-0.5ml
Système 04	CH ₂ Cl ₂ - Heptane	4-1ml
Système 05	Heptane-Acétate d'éthyle	1-3ml 1-4ml

On met les plaques dans des béchers qui contiennent l'éluant (Figure 11).

Après le développement, les plaques ont été séchées, puis visualisées séparément par une lampe UV.

Chaque composé est défini par son facteur de rétention (Rf), qui correspond à sa migration relative par rapport au solvant :

$$Rf = \frac{D1}{D2}$$

D1 : distance point de départ -touche

D2 : distance point de départ-front de solvant

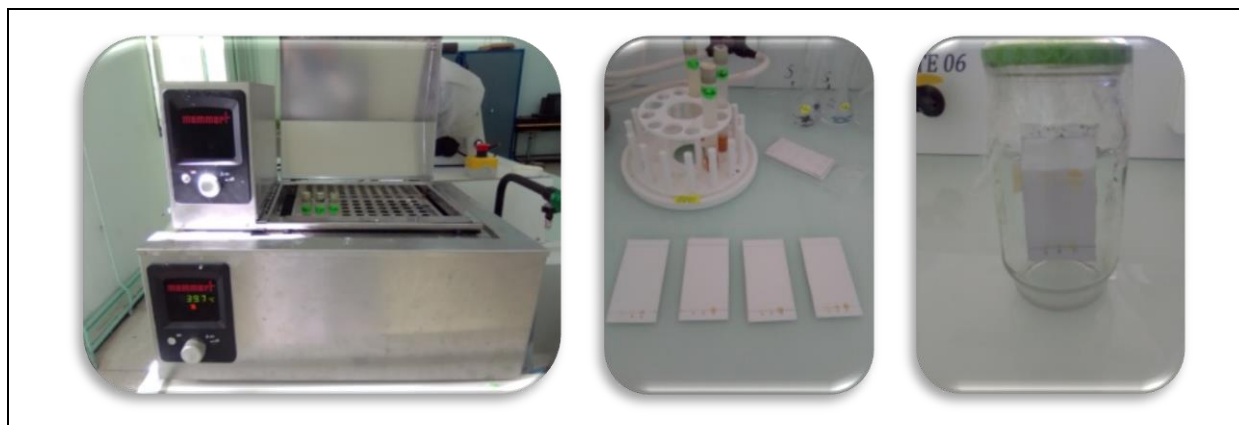


Figure 11 : Etapes de préparation pour séparation les extraits éthanoliques par CCM.

II.3.3. Etude de l'activité antimicrobienne

II.3.3.1. Les souches étudiées

Les extraits bruts éthanolique ont été testés contre les souches bactériennes mentionnées dans le tableau ci-dessous:

Tableau 02 : Souches bactériennes utilisées dans l'activité antibactérienne

souches utilisées		Références
Bactéries	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
	<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 14028
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27835
Champignons	<i>Aspergillus niger</i>	MNHN 02845
Levure	<i>Condida albicans</i>	ATCC 10231

Nous avons utilisé le protocole suivant :

II.3.3.2. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont **Gélose nutritive (GN)** et **Muller-Hinton (MH)**, et qui sont collés dans des boîtes Pétri stériles et dans zone stérile à l'aide des deux bords benzène.

Les boîtes Pétri collées sont conservées à 4°C dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.

On utilisant des milieux GN, on repique par pipette Pasteur des colonies sur ce milieu GN (repiquage).

Finalement, on met les boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24h pour obtenir des jeunes souches.

II.3.3.3. Préparation des concentrations utilisées

Nous avons testé l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques qu'on a préparés à partir des parties comestibles de la plante étudiée (le datte), avec deux concentrations [100mg \ ml] et [500 mg \ ml] : à chaque fois on mélange 1ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) avec le poids déterminé soit 100mg ou 500mg pour chaque extrait éthanolique des trois variétés.

II.3.3.4. Méthode de diffusion en disque

Les extraits éthanoliques ont été testés pour leur activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en disques. Les disques de papier filtre stériles (6 mm de diamètre) ont été individuellement imprégnés avec 15 µl de deux concentration définie des l'extraits éthanoliques pour les trois variétés. Ces disques ont été déposés stérilement sur la surface des milieux Muller-Hinton déjà inoculés avec les microorganismes testés; Des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant l'eau distillée stérile. Par la suite la surface entière de la gélose (Gélose Mueller Hinton) a été inondée par cette suspension microbienne.(Figure 12)

Les boîtes de Pétri ont été conservés à 4°C pendant 2 h et ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24h dans l'étuve, la gentamicine ont servi de témoins positifs. L'activité antibactérienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (mm). L'expérience nécessite trois jours pour trois manipulations. Premier jour repiquage, deuxième jour le teste et le troisième jour pour les résultats. (Figure 12)

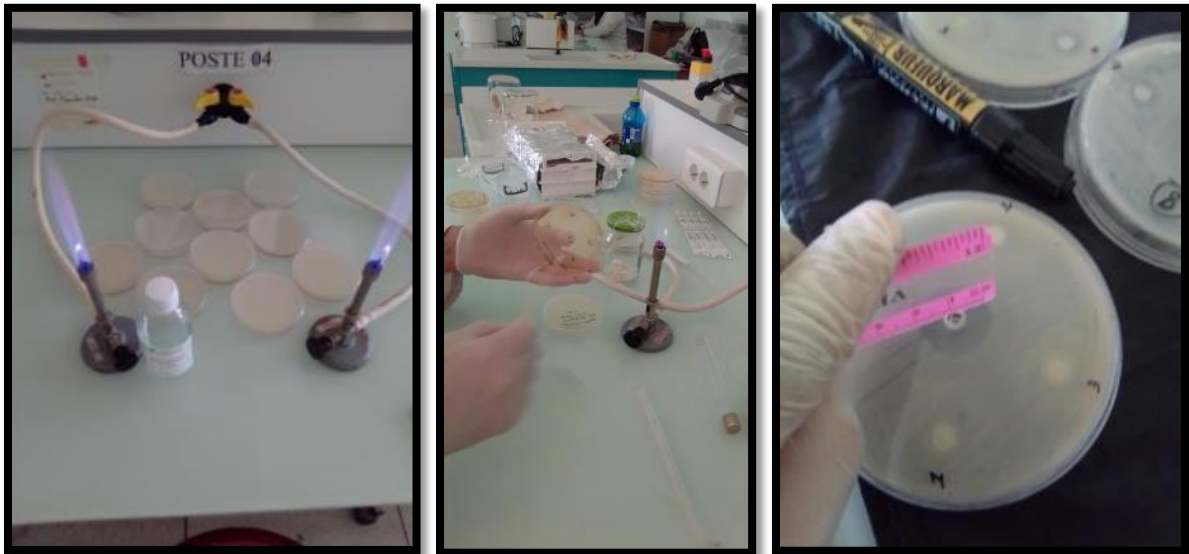


Figure 12 : Méthode de diffusion des disques sur milieu solide.

Chapitre 03
Résultats
et
discussions

Chapitre III : Résultats et discussions**III.1. Etude biochimiques et microbiologiques****III.1.1. Calcul des rendements**

Les rendements des extraits bruts à partir de datte des trois variétés Déglet-Nour, Ghars et Mech-Degla de palmier dattier *Phoenix dactylefera* L. sont reportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 03 : Rendements des l'extraits de datte étudiés

Extrait éthanolique de datte	Rendement (%)
Var. Déglet-Nour	58,585
Var. Ghars	63,24
Var. Mech-Degla	65,995

L'extrait éthanoliques de datte de trois variétés de palmier dattier (*phoenix dactylefera* L.), représentent des rendements approches entre eux, Déglet-Nour 58,585%, Ghars 63,24% et Mech-Degla 65,995%

L'hémogénéité des rendements tellement l'extraits éthanoliques de datte des variétés différentes

III.1.2. Test phytochimique par CCM

Le test phytochimique a été réalisé sur l'extrait éthanolique préparé à partir de datte de palmier dattier *phoenix dactylefera* L.

Pour la séparation de l'extrait brut de datte, une chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques en gel de silice en utilisant 5 systèmes d'élution différents. La révélation a été faite sous la lampe UV et les résultats sont mentionnés dans les figures et le tableau ci-dessous :

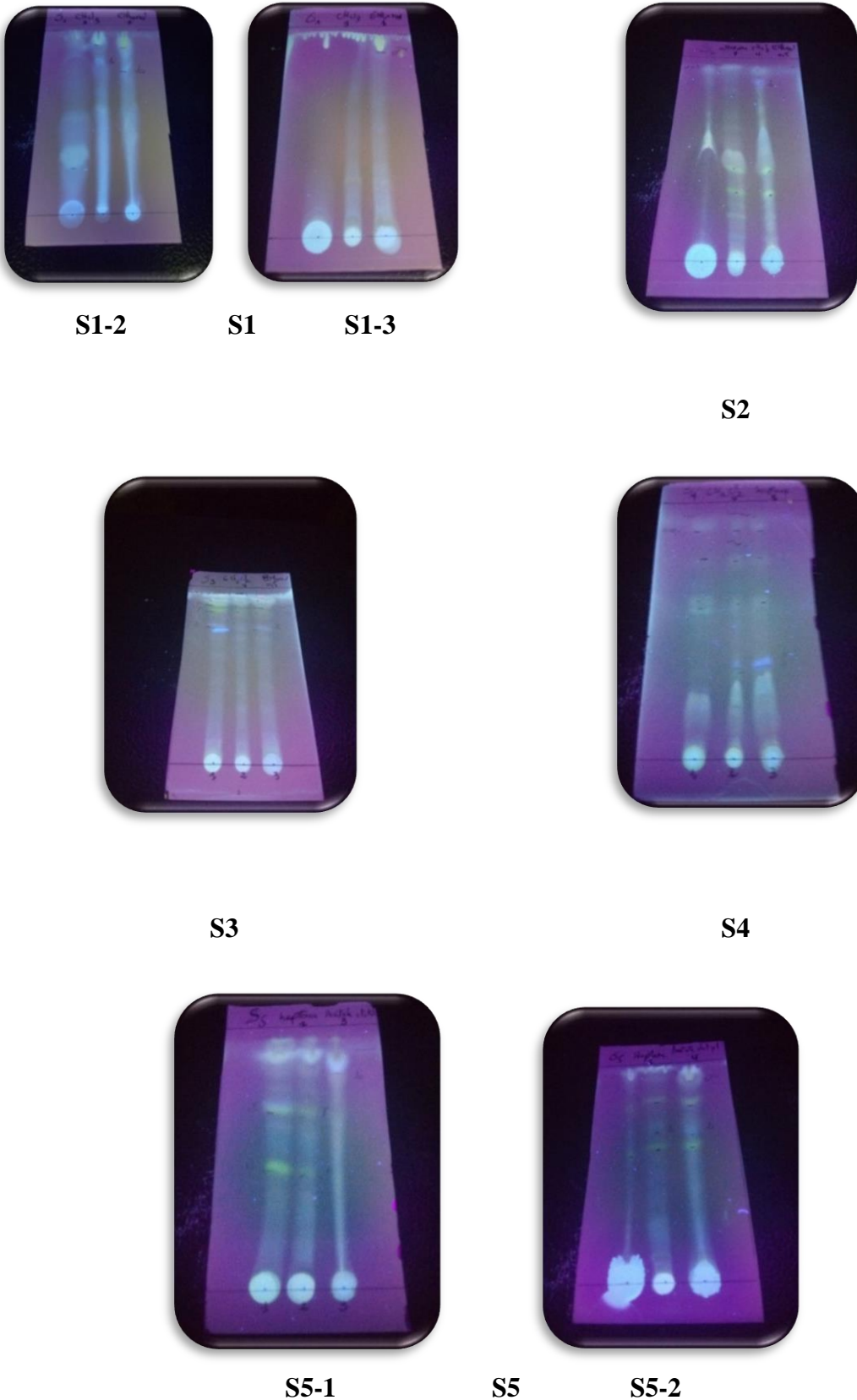


Figure 13 : Plaques CCM sous la lampe UV

Tableau 04: Résultats de facteur de rétention(Rf) de test CCM

Systèmes			Rf		
			Var. D.N.	Var. G.	Var. M.D.
Système 01	CHCl₃- C₂H₅OH	1-1ml	0.19	0.78 0.88	0.71 0.87
		9-1ml	/	/	0.89
Système 02	Hexane –CHCl₃-C₂H₅OH	7-4-0.5ml	0.482	0.26	0.26
			0.51	0.38	0.36
			0.96	0.97	0.88 0.96
Système 03	CH₂Cl₂ - C₂H₅OH	4-0.5ml	0.73	0.81	0.71
			0.85	0.85	0.85
			0.9	0.9	0.89
			0.93	0.94	0.96
Système 04	CH₂Cl₂ – Heptane	4-1ml	0.54	0.17 0.29	0.32
			0.58	0.3	0.57
			0.77	0.57	0.77
			0.9	0.76	0.9
			0.9	0.9	
Système 05	Heptane-Acétate d'éthyle	1-3ml	0.4 0.64	0.39 0.63	0.81
		1-4ml	0.5 0.74	0.53 0.62 0.77	0.53 0.59 0.74 0.88

Par le biais de ces systèmes, nous avons pu mettre en évidence les constatations suivantes:

- La phase Chloroforme/éthanol (9-1) Pour les deux variétés Déglet-Nour et Ghars n'a pas en lieu la séparation et donc n'existe pas des spots, par contre variété Mech-Degla présente un spot c.à.d. un composant.

- il existe 3 composés dans la phase Hexane/ Chloroforme/éthanol pour les variétés Déglet-Nour et Ghars et quatre composée pour Mech-Degla

Selon ces résultats nous pouvons déduire que tout les systèmes s'exercent une bonne séparation pour l'extrait, par rapport le système 1.

Enfin, ces résultats montrent que l'extrait éthanolique a une richesse des composés.

III.1.3. Etude l'activité antibactérienne

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de datte de trois variétés de palmier dattier (*phoenixdactylefera*L) vis à vis des souches bactériennes.

Cette mesure est transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité (tableau 05)

(Ponce *et al.*, 2003 in Ourahmane, 2012).

Tableau 05: Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition (D).

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

Les résultats du test de sensibilité microbienne à l'extrait sont regroupés dans deux tableaux et dans les figures suivantes :

Pour la concentration [100mg/ml]

Tableau 06 : Diamètre des zones d'inhibitions (en mm) par dépôt de 15µl des extraits à concentration [100mg/ml]

souches utilisé		Références	Diamètre d'inhibition en mm		
			Var. D.N	Var. G	Var. M.D
Bactéries	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	/	/	/
	<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 14028	/	/	/
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	/	/	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	/	/	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	/	/	/
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27835	/	/	/
Champignons	<i>Aspergillus niger</i>	MNHN 02845	/	/	/
Levure	<i>Condidaalbicans</i>	ATCC 10231	/	/	/

/: sans zone d'ihnibition

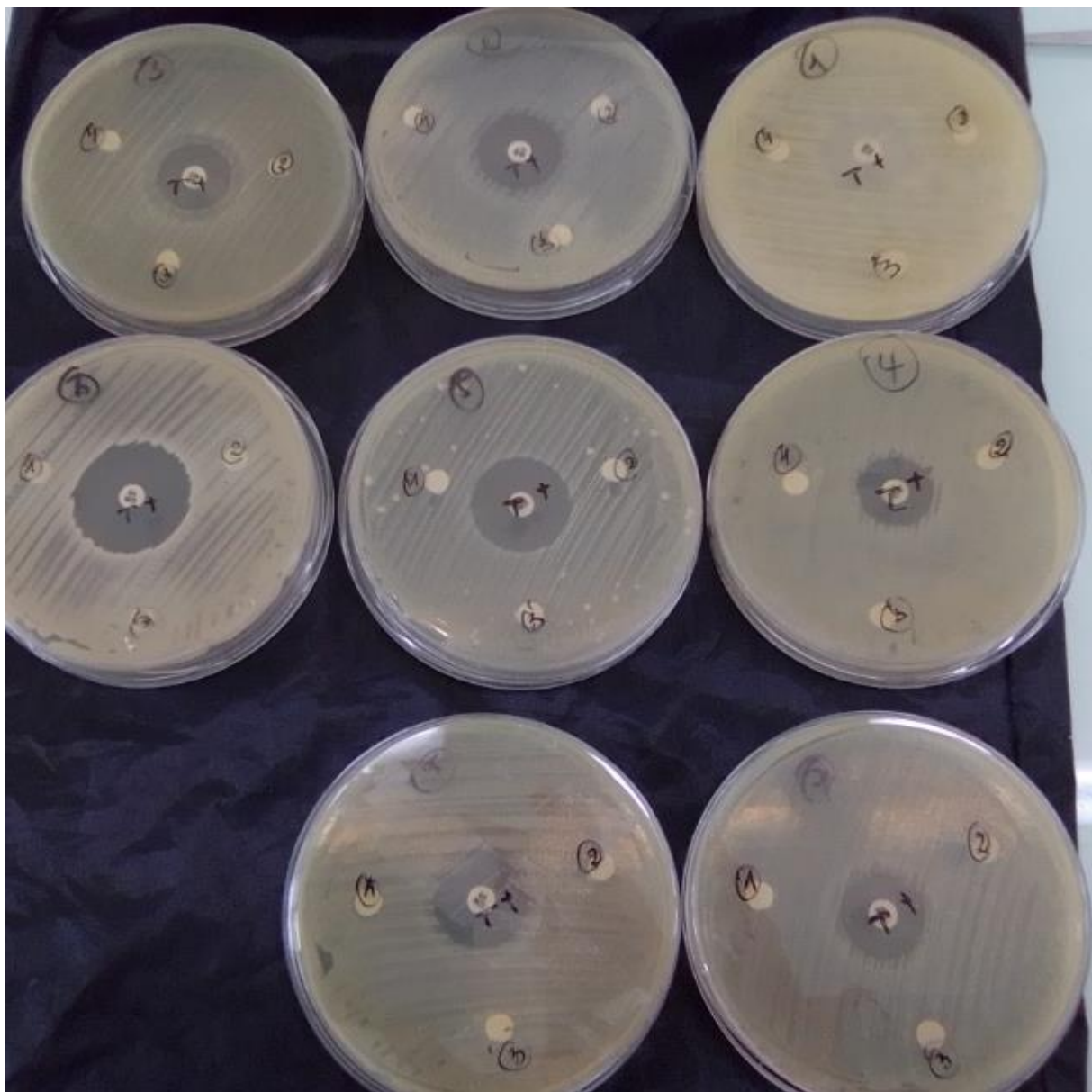
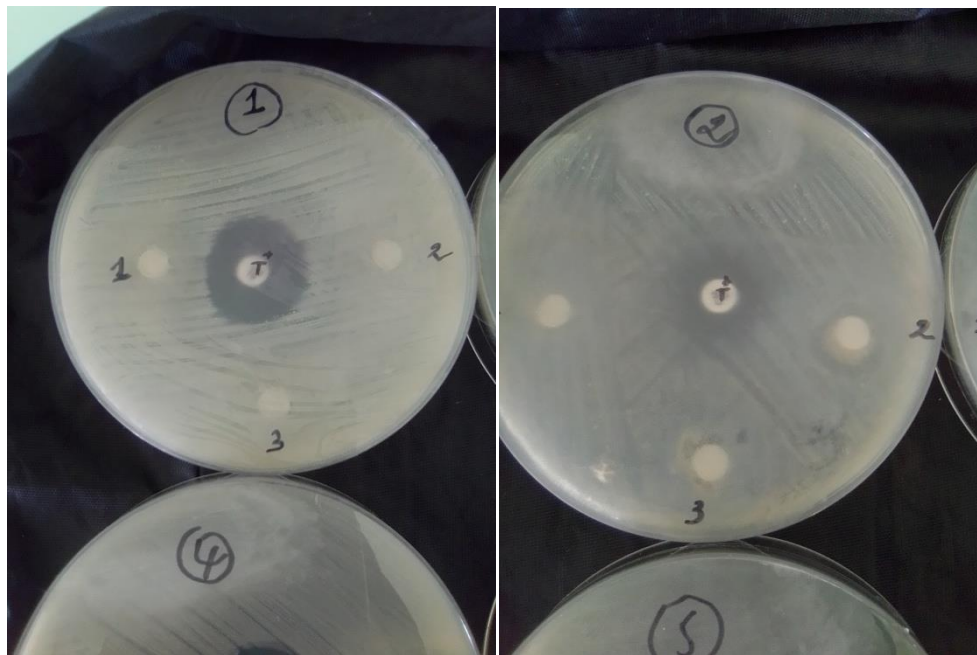


Figure 14 : Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits de concentration [100 mg/ml]

Ensuite pour la concentration [500mg/ml]

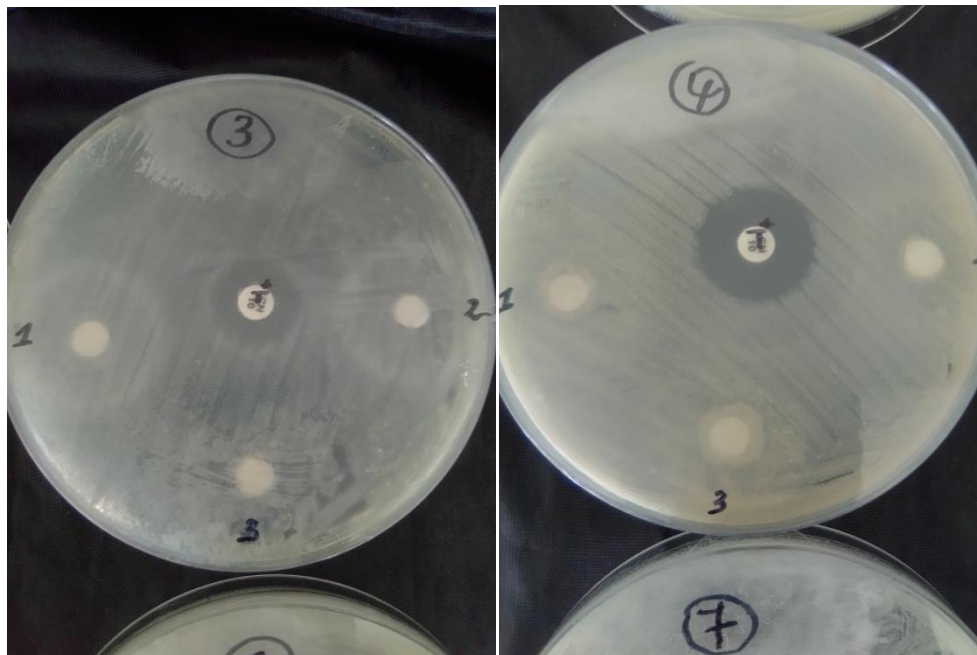
Tableau 07 : Diamètre des zones d'inhibitions (en mm) par dépôt de 15µl des extraits à concentration [500mg/ml]

souches utilisé		Références	Diamètre d'inhibition en mm			
			Var. D.N	Var. G	Var. M.D	T ⁺
Bactéries	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	/	/	/	20 +
	<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 14028	/	10 +	/	27 +
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	09 +	14 +	11 +	27 +
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	08 +	08 +	10 +	16 +
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	/	/	/	19 +
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27835	/	/	/	16 +
Champignons	<i>Aspergillus niger</i>	MNHN 02845	/	/	/	22 +
Levure	<i>Condida albicans</i>	ATCC 10231	/	/	/	23 +



Aspergillus niger

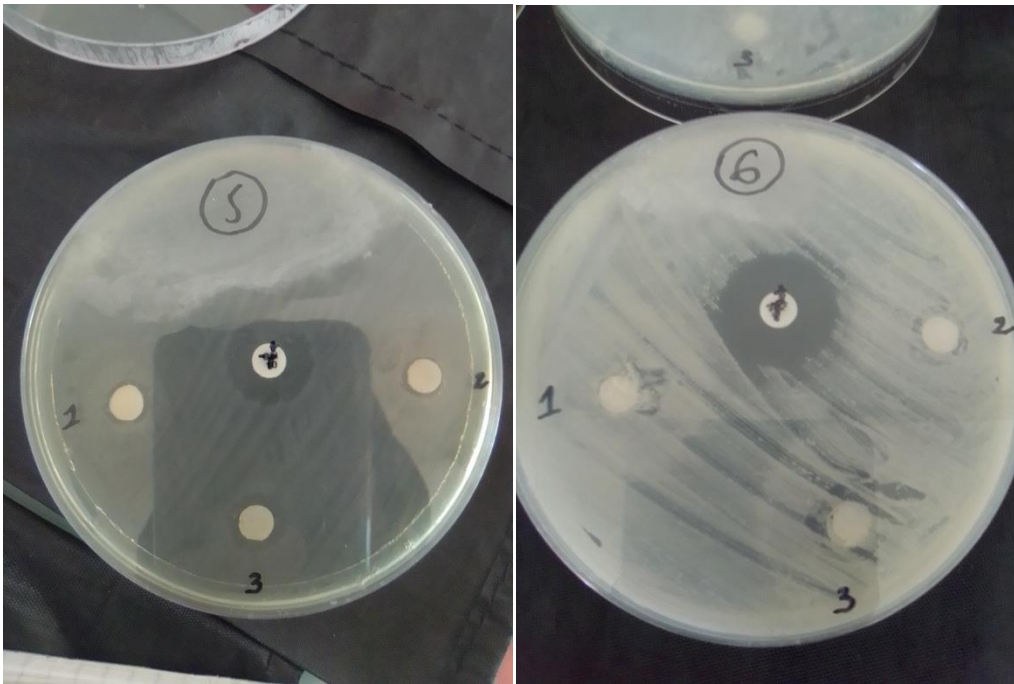
Candida albicans



Pseudomonas aeruginosa

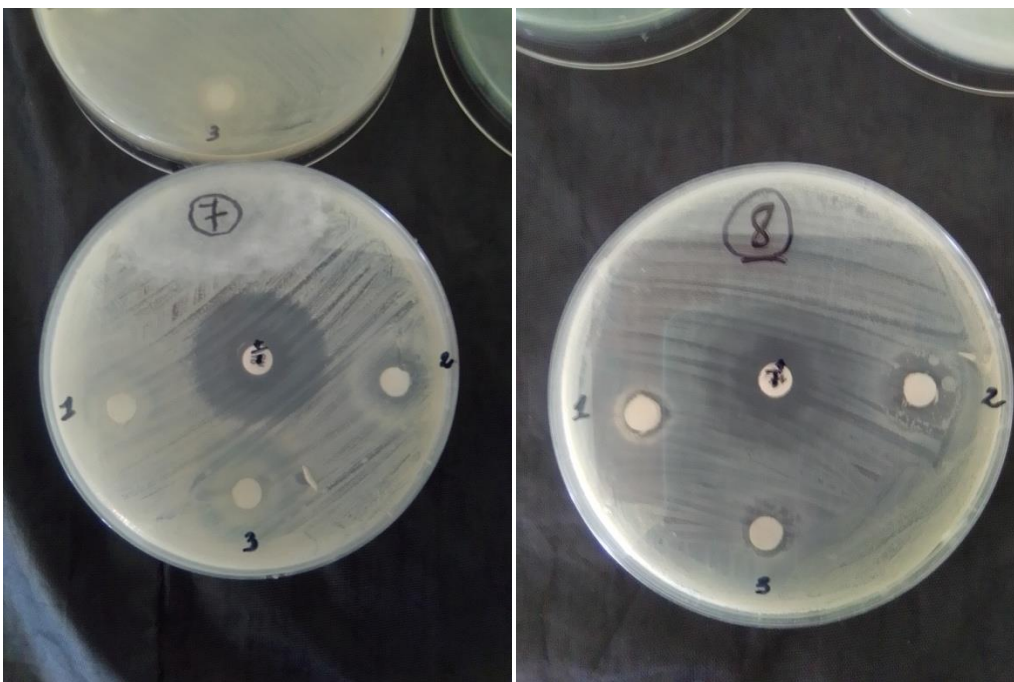
Staphylococcus aureus ATCC 6538

Figure 15 : Les résultats du test de sensibilité microbienne à les extraits de concentration[500mg/ml]



Staphylococcus aureus ATCC 25923

Bacillus subtilis



Salmonella enterica

Escherichia coli

Figure 16 : Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits de concentration [500 mg/ml]

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits de concentration [100mg/ml] montre qu'aucune activité n'est observée de l'extrait éthanolique contre toutes les souches bactériennes donc les souches résistent nos extraits de différentes variétés dans ce cas les extraits sont inactif à une concentration de 100mg/ml.

Par contre, la concentration élevé (500mg/ml), on a observé des activités antibactériennes par les trois extraits (variétés) pour deux souches bactériennes:

Escherichia coli présente chez Déglet-Nour (09mm), Ghars (14mm) et Mech-Degla (11mm) des zones d'inhibitions différentes, il est à signaler que la variété Ghars est la plus active.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 présente une activité similaire entre toutes les variétés Déglet-Nour (08mm) , Ghars (8mm) et Mech-Degla (10mm),

Une seule variété (Ghars) présente une activité antibactérienne avec *Salmonella enterica*

Les restes des souches nos extraits n'exercent pas une activité.

les antibiotiques ont une très sensibilité avec des diamètres différents nous avons de bactérie *Pseudomonas aeruginosa* 27835 a une faible sensibilité à diamètre 16 mm pour l'antibiotique gentamicine, de même avec *Pseudomonas aeruginosa*, par contre, il existe une forte sensibilité avec un diamètre de 27 mm contre les souches *Salmonella enterica* 14028 et *Escherichia coli*

Notre extrait éthanolique exerce une activité contre les deux souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 alors que l'extrait de la variété Ghars exerce une activité contre *Salmonella enterica*

L'étude réalisée par **Ben abbes, (2011)** sur l'extrait de datte de la variété Déglet Nour en Algérie et plus exactement à Tolga (Biskra) montre que l'extrait éthanolique a une activité contre : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* avec diamètres d'inhibitions 7.66mm, 12.66mm et 12mm respectivement pour la concentration 300µg/ml.

D'après ces études nous pouvons constater une grande différence dans l'effet et la capacité antibactérienne et ça peut être dû ainsi à l'effet localisation de palmier (datte) étudié.

Conclusion

Conclusion

L'étude des propriétés antibactériennes de l'extrait éthanolique de trois variétés de dattes; Déglet-Nour, Ghars et Mech-Degla collectées de palmier dattier de la région de Bou-Saâda (Mâadar) la Wilaya de M'sila nous a permis d'obtenir les constatations suivantes : L'analyse effectuée par chromatographie sur couche mince a montré la présence des divers composants dans les extraits éthanoliques de trois variétés de dattes.

Le test de l'activité antibactérienne montre que les extraits éthanoliques avec une concentration de 500mg/ml possèdent un pouvoir inhibiteur contre les deux souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec les trois variétés, alors qu'une seule variété (Ghars) est active contre *Salmonella enterica*. Or, nos extraits n'exercent aucune activité contre les autres souches.

Il est à signaler que toutes les souches bactériennes testées résistent aux extraits à concentration 100mg/ml.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbouna, Y et Nechachbi, A., 2017. Caractérisation des palmiers mâles (Dokkars) dans l'exploitation de l'université UKMO Ouargla, et un essai de pollinisation mécanique. Mémoire de master. Université de Ouargla, 55p.

Abdallah, A. B., 1990. La phoeniciculture. (ed.) Les systèmes agricoles oasiens, Montpellier: CIHEAM. Options Méditerranéennes: Série A. *Séminaires Méditerranéens*, (11).

Abdelkrim, F., Kadri, H. et Belkadi, F.Z., 2008. Etude de la diversité variétale du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) de l'oasis de Bou-saâda. Mémoire DES : Université de M'sila 25p.

Absi, R., 2013. Analyse de la diversité variétale du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.): Cas des Ziban (Région de Sidi Okba). thèse de doctorat, Université Mohamed Khider-Biskra.

Ait baziz, H. et Chemali, A., 2017. Evaluation de l'activité antioxydante et de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'une plante médicinale locale. Université de Bejaïa, Bejaïa, p 18.

Al-Alawi, R. A., Al-Mashiqri, J. H., Al-Nadabi, J. S., Al-Shihi, B. I. et Baqi, Y., 2017. Date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.): natural products and therapeutic options. *Frontiers in plant science*, 8, 845.

Babahani, S. et Bouguedoura, N., 2009. Effet de quelque méthode simple de conservation du pollen sur les caractères de la production dattière. *Revue Sciences et technologie*, n 30, 9-15p.

Baliga, M. S., Baliga, B. R. V., Kandathil, S. M., Bhat, H. P. et Vayalil, P. K., 2011. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits *Phoenix dactylifera* L. *Food research international*, 44(7), 1812-1822.

Ben abbes, F., 2011. Etude de quelque propriété chimique et biologique d'extrait de datte *Phoenix dactylifera* L. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas. Setif. p68.

Booij, I., Piombo, G., Risterucci, J. M., Coupe, M., Thomas, D. et Ferry, M., 1992. Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Fruits*. Vol. 47. n° 6. 667-678.

Chehma, A. et Longo, H. F., 2001. Valorisation des sous-produits du palmier dattier en vue de leur utilisation en alimentation du bétail. *Rev. Energ. Ren.: Production et Valorisation-Biomasse*, 59-64.

Dransfield J., Uhl N. W., Asmussen C. B., Baker W. J., Harley M. M. et Lewis C. E., 2008. « Genera Palmarum: the evolution and classification of palms ». Royal Botanic Gardens, Richmond, Surrey, UK.

Middleton, E., Kandaswami, C. et Theoharides, T.C., 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.

Moore, H. E., 1973. The major groups of palms and their distribution. *Gentes Herbarium* 11: 27- 141p

Munier, P., 1973. Le palmier dattier-techniques agricoles et productions tropicales. France: Maisonneuve et Larousse, 217p.

Ozenda, P., 1991. Flore et végétation du Sahara, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.

Peyron, G., 2000. Cultiver le palmier-dattier. Editions Quae, 109p.

Quezel, P. et Santa, S., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Edition de centre national de la recherche scientifique, France-Paris, 558p.

Sedra, M. H., 2003. Le palmier dattier base de la mise en valeur des oasis au Maroc. Maroc: INRA Édition.

Toutain, G., 1967. Le palmier dattier culture et production. Al awamia.

www.google.com/maps .

المخلص

تحتوي المستخلصات الطبيعية النباتية على تنوع في الجزيئات و المركبات الفينولية التي تعود إليها مختلف النشاطات البيولوجية, وفي هذا الصدد قمنا بتقييم النشاطية ضد البكتيريا للمستخلص الايثانولي لثلاث انواع من ثمار النخيل : دقلة نور، غرس ومش دقلة. كشف التحليل النوعي لهذا المستخلص بواسطة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة عن وجود مركبات مختلفة لكل صنف لها. يظهر اختبار النشاط المضاد للبكتيريا أن المستخلصات الايثانولية [500mg/ml] لها نشاط ضد بعض السلالات البكتيرية من بينها: *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 وليس لها نشاط ضد *Aspergillus niger* ، *Condida albicans* و *Pseudomonas aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية : نخيل التمر، النشاطية ضد البكتيريا، تمر، مركبات فينولية، مستخلص ايثانولي.

Résumé

Les extraits naturels des plantes contiennent une variété des composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude on a tenté d'évaluer l'activité antibactérienne des l'extraits éthanoliques préparé à partir de datte de trois variétés de *Phoenix dactylifera*. Déglet-Nour, Ghars et Mech-Degla . L'analyse qualitative de ces extraits par la CCM a révélée la présence des divers composés pour chaque variété. Le test de l'activité antibactérienne montre que les extraits éthanoliques [500mg/ml] sont actif contre quelque souches bactériennes testées parmi les quelles : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, et inactif contre *Aspergillus niger*, *Condida albicans* et *Pseudomonas aeruginosa*

Mots clés: *Phoenix dactylifera* L.,activités antibactériennes, dattes, composés phénoliques, extrait éthanolique.