

## EXTRACTION DE POLYSACCHARIDES PARIETAUX DES NOYAUX DE DATTES VARIETE GHARS

DADDI OUBEKKA Leila<sup>1\*</sup>, DJELALI Nacer-Eddine<sup>1</sup>,  
CHAMBAT Gérard<sup>2</sup>, RINAUDO Marguerite<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup>Laboratoire de Traitement et Mise en Forme des polymères Fibreux  
Université M'Hamed Bougara, Boumerdes, Algérie

<sup>(2)</sup>Centre de recherche sur les macromolécules végétales (CERMAV)  
Université Joseph Fourier, Grenoble

Email: [leilachem@yahoo.fr](mailto:leilachem@yahoo.fr) / [djelnac@yahoo.fr](mailto:djelnac@yahoo.fr) / [gerard.chambat@cermav.cnrs.fr](mailto:gerard.chambat@cermav.cnrs.fr) / [marguerite.rinaudo@cermav.cnrs.fr](mailto:marguerite.rinaudo@cermav.cnrs.fr)

(Received 22 November 2017– Accepted 03 June 2018)

**Résumé.-** L'étude porte sur la valorisation des noyaux de dattes variété «Ghars», considérés comme une biomasse lignocellulosique largement disponible. Il est procédé à l'analyse de la composition chimique de la poudre de noyaux de dattes. Les résultats montrent qu'elle est composée de 9% d'humidité, 2,23% de cendres, 8,25% de protéines et 6,58% de lipides exprimés par rapport au poids. Après une délignification au chlorite de sodium, il est effectué une solubilisation des hémicelluloses par des solutions d'hydroxyde de sodium à des concentrations croissantes 5%, 10% et 17,5%. La poudre de noyaux de dattes «Ghars» est constituée de 6,42% de lignines-insolubles, 43,48% d'hémicelluloses et 12,84% de cellulose. L'analyse des extraits hémicellulosiques par la chromatographie en phase gazeuse, par les deux méthodes, la réduction/acétylation et la méthode des méthylglycosides-O-triméthyles (TMS), indique que le mannose est le monosaccharide majoritaire suivi par le galactose et le glucose, d'où le noyau de datte est une source de mannose non négligeable. L'extraction des hémicelluloses montre que la poudre de noyaux de dattes variété «Ghars» est composée de glucomannane avec un rapport Man: Glc de 3:1.

**Mots clés:** Noyaux de dattes, Ghars, hémicelluloses, mannose

### PARIETAL POLYSACCHARIDES EXTRACTION FROM DATE PITS OF GHARS VARIETY

**Abstract.-** The main objective of our study is the valuation of date pits, considered as a widely available lignocellulosic biomass. As a preliminary step, we analyzed the chemical composition of the dates pits powder, about lipids, proteins and ash content, followed by the extraction of the polysaccharides. The results show that raw date pits powder contains 9% moisture, 2,23% ash, 8,25% proteins, 6,58% oil expressed to dry weight. After delignification with sodium chlorite solution, we carried out the solubilization of the hemicelluloses by sodium hydroxide solutions at increasing concentrations 5%, 10% and 17,5%. The raw date pits of variety «Ghars» is composed of 6,42% insoluble-lignin, 43,48% hemicelluloses, and 12,48% cellulose. The polysaccharides are hydrolyzed by two methods: the first one is the reduction / acetylation method and the second is the method of methylglycosides-O-trimethyls (TMS), then they are analyzed by gas chromatography to determine the quality and quantity of the sugars. The results indicate that mannose is the majority sugar, followed by galactose and glucose. The extraction of hemicelluloses shows that raw date pits of Ghars variety is composed of glucomannan with the ration Man: Glc of 3:1.

**Key words:** Date pits, Ghars, hemicelluloses, mannose.

### Introduction

Le palmier dattier est cultivé dans les régions arides et semi arides. L'espèce *Phoenix dactylifera* L. fait partie de la classe des monocotylédones, d'une famille des plantes tropicales (Palmaceae) représentée par 200 genres et 2700 espèces répartis en six familles

[1]. Le noyau de la datte «Ghars», qui fait l'objet de cette étude représente 12,87% du poids de la datte [2]. Un grand nombre de chercheurs se sont intéressés à l'étude de la composition chimique et biochimique des noyaux de dattes de variétés différentes [3-6]. Plusieurs études se sont intéressées aux propriétés pharmacologiques de la poudre de noyaux de dattes en raison de sa richesse en composés phytochimiques: les fibres, les phénols, les huiles, les protéines, les antioxydants, les tannins, les flavonoïdes et les acides cinnamiques, qui ensemble réagissent comme agents de bio contrôle. Les activités nutritionnelles et médicinales des noyaux de dattes sont liées à leur composition chimique [7]. Néanmoins peu d'études portent sur la composition polysaccharidique du noyau de dattes [8-10], d'où l'objet de la présente étude, afin d'obtenir plus d'informations sur les hémicelluloses que comporte le noyau de dattes.

## 1.- Matériel et méthodes

### 1.1.- Matériel végétal

Les dattes (*Phoenix dactylifera* L.), de la variété Ghars, sont récoltées de la palmeraie de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien), située au sud de l'Algérie. A partir de 1,6 kg de dattes, récoltées six mois auparavant et conservées dans un emballage hermétique, il est retiré 300 g de noyaux, qui constitueront le matériel végétal de cette étude. Ils sont lavés avec de l'eau distillée, séchés dans un four ventilé à 105°C pendant 2 heures, puis concassés, broyés et tamisés (broyeur Retch ZM200) à une granulométrie  $\leq 250 \mu\text{m}$ .

### 1.2.- Caractérisation chimique du matériel végétal

#### 1.2.1. Détermination du taux d'humidité

Une capsule vide est séchée durant 15 minutes à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ , puis retirée de l'étuve, placée dans le dessiccateur et pesée après refroidissement. Un échantillon de 1 g de poudre est étalé et placé dans l'étuve à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 30 mn. Une fois retirée de l'étuve, la capsule est placée dans le dessiccateur et pesée une fois refroidie. Cette opération est répétée jusqu'à obtenir un poids constant, au bout de 3 heures de temps [11].

La teneur en eau est égale à la perte de masse subie et calculée par l'équation ci-dessous.

$$H\% = \frac{m_1 - m_2}{P} 100 \quad (1)$$

H%: Teneur en eau ou humidité,

$m_1$ : Masse de la matière fraîche + capsule (g),

$m_2$ : Masse de la matière sèche + capsule (g),

P: Masse de la prise d'essai en g.

La teneur en matière sèche se déduit facilement par différence:

$$\text{Matière sèche}\% = 100\% - \%\text{Humidité} \quad (2)$$

#### 1.2.2.- Détermination du taux de cendres

Les cendres sont le résidu minéral qui reste après combustion dans des conditions bien déterminées. Un gramme de poudre de noyaux de dattes (PDN), préalablement séchée à 105°C, dans une coupelle en porcelaine, subit une incinération dans un four à 550°C

pendant 3 heures. La coupelle et les cendres sont refroidies dans un dessiccateur puis pesées.

La teneur en cendres est calculée selon la formule suivante [11]:

$$MO\% = \frac{m_1 - m_2}{P} 100 \quad (3)$$

Où:

MO%: Matière organique en pourcentage,

m<sub>1</sub>: Masse du creuset avec la prise d'essai (g),

m<sub>2</sub>: Masse du creuset avec les cendres (g),

P: Masse de la prise d'essai (g).

Il est déduit donc la teneur en cendres:

$$\text{Cendres \%} = 100 - \text{MO\%} \quad (4)$$

### 1.2.3.- Détermination de la quantité de protéines totales

Un gramme de poudre PDN est mis dans un creuset, une pincée de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium comme catalyseur sont ajoutées. Ensuite 15 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés, une vapeur blanche d'anhydride sulfurique apparaît, le mélange est chauffé progressivement jusqu'à 440°C pendant 5 heures. La solution devient limpide, elle est refroidie et complétée jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée. Puis 20 ml de solution de soude à 4 N est ajoutée. L'acide borique à 25% est ajouté à la solution minéralisée qui sera distillée. Le dégagement d'ammoniac est recueilli dans une solution d'acide borique contenant l'indicateur coloré (mélange de bleu de méthylène et de rouge de méthyle). L'excès d'ammoniac est dosé par l'acide sulfurique 0,05 N. La même opération est effectuée avec un témoin qui ne contient pas de PDN [11].

La teneur en azote total est calculée comme suit:

$$N\% = \frac{0,014 \cdot (V_2 - V_1) \cdot N \cdot 100}{P} \quad (5)$$

Avec:

V<sub>1</sub>: Volume de l'acide sulfurique lu après titrage pour le témoin (ml),

V<sub>2</sub>: Volume de l'acide sulfurique lu après titrage (ml),

N: Normalité de l'acide sulfurique (0,05 N),

P: Poids de la prise d'essai (g),

La quantité de protéines se calcule comme indiqué par l'équation suivante:

$$\text{Protéines\%} = \%N \cdot 6,25 \quad (6)$$

### 1.2.4.- Détermination de la quantité de lipides

Dix (10) g de poudre PDN sont mis dans une cartouche, pesée au préalable et placée dans le Soxhlet (Behrotest RK250). Ensuite 150 ml d'hexane sont versés dans le ballon, et 50 ml d'hexane dans l'extracteur. Le système est chauffé de 40 à 60°C pendant 8 heures. L'hexane est évaporé sous pression puis l'huile récupérée est transvasée dans un tube à hémolyse et laissée dans une étuve à 40°C jusqu'à avoir un poids constant. La

poudre est dite poudre délipidée; elle est séchée dans une étuve ventilée à 40°C et pesée [11].

### 1.2.5.- Analyse qualitative et quantitative des acides gras

La composition en acides gras de l'huile de noyaux de dattes est déterminée par la chromatographie en phase gazeuse CPG/SM de type CPG Shimadzu GC2010-plus et SM Shimadzu QP2010-SE, après saponification et méthylation en utilisant le complexe méthanol et trifluoroborate.

Pour préparer l'échantillon d'ester méthylique d'acides gras, 100 mg d'huile additionnée de 5 mg d'acide heptadécanoïque (C17 utilisé comme étalon interne) et 4 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium (0,5 M) préparée dans le méthanol vont réagir à reflux pendant 10 minutes. Puis 5 ml de méthanol et le BF<sub>3</sub> sont ajoutés, et la suspension est portée à ébullition pendant 5 minutes supplémentaires.

L'extraction des esters méthyliques d'acides gras se fait par 2 ml d'heptane. Un volume de 1 µl de l'extrait préparé est injecté en CPG.

L'analyse est effectuée dans les conditions suivantes: une colonne Innowax (30m x 0,32mm x 0,15µm) ; un détecteur à ionisation de flamme. L'azote comme gaz vecteur ; l'injection se fait à 250°C en mode split, avec un rapport de division égal à 100. La température de la colonne est programmée comme suit: 180°C durant 10 minutes, puis elle est augmentée de 180°C à 220°C à raison de 5°C par minute et puis elle est maintenue à 220°C pendant 2 min. La température de l'injection est à 200°C, le détecteur est à 250°C.

### 1.2.6.- Détermination de la quantité de lignines Klason

Dans un ballon, un gramme de PDN est placé auquel 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 72% sont ajoutés, le mélange est laissé pendant 2 heures à 30°C. A cette suspension 365 ml d'eau distillée est ajoutée et portée à reflux pendant 6 heures dans un bain d'huile à 100°C. Après une nuit, la solution est filtrée sur un verre fritté n°4, préalablement séché et taré. Le résidu est lavé à l'eau chaude pour éliminer toutes traces d'acide, puis mis à l'étuve jusqu'à obtenir un poids constant. Le résidu est mis dans le dessiccateur puis pesé.

### 1.2.7.- Composition en monosaccharides par colorimétrie de la poudre de noyaux de dattes

*Dosage des acides uroniques par le m- hydroxydiphényle (Blumenkrantz et Asboe-Hansen, 1973) [12]*

Le dosage des acides uroniques est effectué directement par la méthode au m-hydroxydiphényle par référence à une courbe étalon, obtenue à partir de l'acide D-galacturonique pur. Dans un tube 5 mg de PDN/extrait sulfurique est pesée, ensuite 6 ml de 12,5 mM de tétraborate de sodium dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré y sont ajoutés. Le tube est refroidi à 4°C et 1 ml d'eau est délicatement ajouté. Après agitation du tube dans un bain de glace, celui-ci est chauffé pendant 10 mn dans un bain marie puis refroidi à température ambiante. Ensuite 0,1 ml de m-hydroxydiphényle à 0,15%, préparé dans NaOH à 0,5% est ajouté. La lecture est effectuée à 520 nm par un spectrophotomètre UV de type Koniron Spectromètre, Ovikon 180 [12].

### ***Hydrolyse acide des polysaccharides***

Pour analyser le filtrat par chromatographie en phase gazeuse, par la méthode de réduction/acétylation, 2 ml du filtrat sont dilués avec 2 ml d'eau puis une pointe de BaCO<sub>3</sub> est ajoutée; la solution est laissée sous agitation puis filtrée sur célite. Ensuite 0,5 ml de l'étalon interne (10 mg méso-inositol + 10 ml H<sub>2</sub>O) est ajouté. La solution est gardée à 4°C pendant une nuit. Ensuite pour élever le pH à 8-9, 3 gouttes d'ammoniaque 4% y sont ajoutées.

#### **Réduction**

Les sucres sont réduits par une pointe de spatule de NaBH<sub>4</sub>. La solution est laissée pendant 5 heures, à température ambiante. Ensuite 2 à 3 gouttes d'acide acétique à 50% sont ajoutées pour neutraliser la solution (pH 4), puis la solution est évaporée à sec, on y ajoute 2 ml de solution (méthanol/ HCl 1%) et la solution est évaporée à sec. Cette opération est répétée 3 fois, jusqu' à obtenir un dépôt blanc (CH<sub>3</sub>COONa).

#### **Acétylation**

En quantité équivalente (0,5 à 1 ml) de pyridine et d'anhydride acétique sont ajoutés à la solution. La solution est chauffée à reflux à 100°C pendant 1 heure. On y ajoute une quantité d'eau, puis la solution est évaporée à sec. Cette opération est répétée 2 à 3 fois jusqu'à disparition de la pyridine. En dernier, 2 ml de chloroforme sont ajoutés et un volume de 0,5 µl de l'échantillon est injecté dans l'appareil. L'analyse est faite sur un chromatographe HP 5890 A à ionisation de flamme couplé à l'intégrateur HP 3395A.

Les conditions d'analyse sont: Une colonne SPTM- 2380, fused silica capillary column (30 m X 0,53 mm X 0,2 µm). L'azote est utilisé comme gaz vecteur, dont le débit est réglé à 4 ml/mn ; le four est chauffé à 195°C pendant 4 mn, puis il est augmenté de 2.5 °C par minute jusqu'à atteindre la température de 225 °C ; la température de l'injection est réglée à 260°C, la température du détecteur est à 280°C. Le volume injecté: 0,5 µl.

### **1.3.- Extraction des polysaccharides pariétaux**

Le protocole utilisé, pour l'extraction et le fractionnement des hémicelluloses, est présenté dans la figure 1.

#### **1.3.1.- Extraction des polysaccharides à l'eau froide**

Une quantité de 13 g de poudre de noyaux de dattes est solubilisée dans 50 ml d'eau distillée, laissée pendant 48 heures à température ambiante. Cette opération est répétée deux fois. Après filtration les deux filtrats sont mélangés, concentrés et lyophilisés (m=0,2651 g). Pour connaître la composition en sucres, 3 mg de cet échantillon est hydrolysé par TFA (2N) à 100°C dans un bain sec pendant 4 heures, réduit et acétylé.

#### **1.3.2.- Séparation de l'holocellulose: délignification**

Quatre (4) g de poudre de noyaux de dattes traitée à l'eau et préalablement séchée à 100-105°C, ensuite 80 ml de la solution de chlorite de sodium (17g/l), 240 ml d'eau distillée et 80 ml de la solution tampon (pH= 4,9), sont ajoutés. La solution est chauffée à reflux dans un bain d'huile à 70°C sous agitation pendant 2 heures. La solution est filtrée sous

vide, le résidu est lavé et séché à 80°C puis pesé, ce dernier est appelé l'holocellulose. Le filtrat est concentré et dialysé.

### 1.3.3.- Isolement et fractionnement des hémicelluloses

Une extraction alcaline à partir de l'holocellulose (2,0924 g) est effectuée sous agitation pendant une nuit, par un traitement avec 50 ml de NaOH à des concentrations croissantes 5%, 10% et 17,5%.

Tous les filtrats sont neutralisés avec la solution d'acide chlorhydrique (4N), concentrés, dialysés (membrane de dialyse de coupure 12000-14000 Da) et lyophilisés. Les filtrats sont hydrolysés par le TFA (2N) et sont analysés par la CPG. En dernier le résidu de l'extraction de soude à 17,5% est lavé et neutralisé puis séché à 80°C.

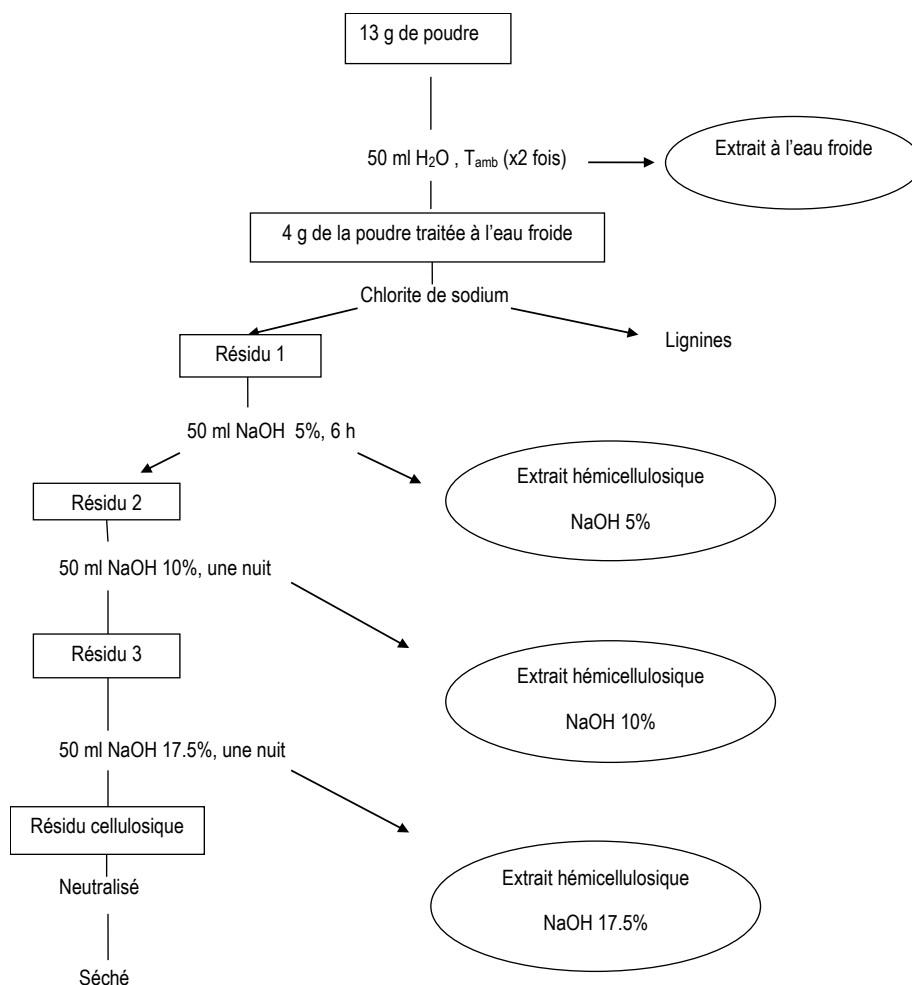


Figure 1.- Protocole d'extraction et de fractionnement des hémicelluloses [13]

## 1.4.- Analyse qualitative et quantitative

### 1.4.1.- Chromatographie en phase gazeuse (CPG) selon la méthode de la réduction/acétylation (alditols acétates)

Deux flacons sont préparés, l'un contient l'échantillon qui a subi l'hydrolyse au TFA en présence de l'étalon interne (méso-inositol) et l'autre contient l'étalon interne qui

sert de témoin.

**Flacon 1:** 0,5 ml [11 mg de méso-Inositol dissous dans 10 ml de TFA (2M)] est ajouté à 3 mg d'échantillon, et puis subit un chauffage à 100°C dans un bain sec pendant 4 heures. Le tube est refroidi et une petite quantité d'eau est additionnée puis évaporée à sec. Cette opération est répétée 3 fois jusqu'à avoir un pH= 4-5.

**Flacon 2:** 11 mg de méso-Inositol sont dissouts dans 10 ml d'eau distillée. Les deux flacons sont laissés dans le réfrigérateur pendant une nuit.

**Réduction:** Dans les deux flacons, 3 gouttes d'ammoniaque à 4% sont additionnées pour élever le pH= 8-9, puis une pointe de spatule de NaBH<sub>4</sub> est ajoutée, le mélange est laissé pendant 5 heures à température ambiante, puis 2 à 3 gouttes de CH<sub>3</sub>COOH (50%) sont ajoutées pour neutraliser le pH= 4. La solution est évaporée à sec puis 2 ml de (méthanol/HCl 1%) sont ajoutés et une évaporation à sec est effectuée. Cette manipulation est répétée 3 fois jusqu'à avoir un dépôt blanc (CH<sub>3</sub>COONa) sur la paroi du ballon.

**Acétylation:** 0,5 à 1 ml de pyridine est ajoutée à une quantité équivalente d'anhydride acétique, le mélange est chauffé à reflux pendant 1 heure à 100°C dans un bain d'huile. Après évaporation, 2 ml de chloroforme sont ajoutés. L'échantillon est prêt à être injecté dans la CPG.

**Appareil utilisé:** HP5890A équipé avec une colonne SPTM- 2380, fused silica capillary column 30 m X 0,53 mm X 0,2 µm. Détecteur à ionisation (FID) couplé à un intégrateur Hewlett-Packard 3395. L'azote est utilisé comme gaz vecteur, le débit est réglé à 4 ml /mn. Le four est chauffé à 195°C pendant 4 mn, puis la température est augmentée de 2,5°C par minute jusqu'à atteindre la température de 225°C. La température de l'injection est réglée à 260°C, la température du détecteur est à 280°C. Le volume injecté est de 0,5 µl.

#### 1.4.2.- Chromatographie en phase gazeuse selon la méthode des méthylglycosides–O-triméthyles

Avant de caractériser les hémicelluloses par cette méthode de chromatographie, les oses neutres et les acides uroniques sont quantifiés par la méthode de DUBOIS (1956) [14] et la méthode de BLUMKRANTZ *et al.* (1973) [12].

##### *Dosage des oses neutres par la méthode du Dubois (1956) [14]*

La solution à doser (200 µl) est mise en présence du même volume de phénol-sulfurique à 5% (réactif chromogène). Après homogénéisation des échantillons au vortex, 1 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté rapidement au milieu réactionnel. Après homogénéisation, ce mélange est porté au bain-marie à 100°C pendant 5 minutes. Ensuite les tubes sont placés à l'obscurité pendant 30 minutes, après refroidissement dans un bain de glace. Une couleur jaunâtre apparaît.

Les absorbances sont lues à 492 nm (UV 1700 PharmaSpec, Shimadzu). Les quantités d'oses en solution peuvent être établies en comparaison avec une gamme étalon de glucose de concentrations 0; 25; 50 et 100 µg.ml<sup>-1</sup> et d'acide galacturonique de concentrations 0; 50; 100 et 200 µg.ml<sup>-1</sup> [15].

### ***Dosage des acides uroniques par la méthode de Blumkrantz et al. (1973) [12]***

Aux 200 µl d'échantillon, placés sur un bain de glace à 4°C, est ajoutée 1,25 ml de solution de tétraborate de sodium à 12,5 mM préparée dans l'acide sulfurique concentré. Après homogénéisation au vortex, les tubes sont mis dans un bain-marie à 100°C durant 5 minutes puis refroidis dans un bain de glace. Après refroidissement, 20 µl d'une solution de méta-hydroxydiphényle (m-HDP) à 0,15% préparée dans une solution de NaOH à 0,5% (m/v) sont ajoutés. Le mélange est homogénéisé avant d'être placé à l'obscurité pendant 30 minutes. Les quantités d'acides uroniques en solution peuvent être établies en comparaison avec une gamme étalon d'acide galacturonique de concentrations 0; 25; 50 et 100 µg/ml et une gamme étalon de glucose de concentration 0; 100; 200 et 500 µg/ml qui ont subi les mêmes étapes que l'échantillon. L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 520 nm (UV 1700 PharmaSpec, Shimadzu) [12].

La chromatographie en phase gazeuse (CPG), après transformation des oses en dérivés O-triméthylsilylés, est effectuée en deux étapes: une méthanolyse suivie d'une pertriméthylsilylation des monosaccharides libérés, qui a été adaptée par Marga et ses collaborateurs [15] à l'analyse de poudres végétales, et peut être aussi utilisée pour l'étude de la composition monosaccharidique des résidus d'extractions.

#### **Méthanolyse**

Vingt (20) µg de méso-inositol est ajouté à 200 µg de polysaccharides, servant de témoin interne. Après lyophilisation, dans le lyophilisateur Lyonac GT 2-E.

L'étape de méthanolyse est réalisée en condition anhydre, dans une boîte à gants saturée en azote. Les monosaccharides sont libérés sous forme de méthylglycosides par ajout de 1 ml de méthanol chlorhydrique 1 M. La réaction de méthanolyse est stoppée après 24h à 80°C par séchage de l'hydrolysate sous flux d'azote. La délipidation est ensuite réalisée par 3 lavages successifs à l'heptane (3 x 1 ml). Le mélange est homogénéisé par agitation. La phase méthanolique est ensuite séchée sous flux d'azote.

#### **Pertriméthylsilylation**

L'étape de dérivation est réalisée à l'aide de 100 µl de pyridine anhydre et 100 µl de N,O-bis-triméthylsilyl-trifluoroacétamide (BSTFA) + 1% TMCS (triméthylchlorosilane), pendant 2 h à l'étuve à 27°C. Enfin, le stockage au congélateur, au moins une nuit, est réalisé avant l'injection de 1 µl en CPG.

### **1.5.- Analyse structurale des hémicelluloses par infrarouge**

L'analyse des hémicelluloses est effectuée en utilisant un spectromètre FT-IR Perkin-Elmer 1720X, sur une gamme comprise entre 400 et 4000  $\text{Cm}^{-1}$ . Les pastilles sont préparées avec 2 mg d'échantillon et 195 mg de KBr comme support.

## **2.- Résultats et discussion**

### **2.1.- Composition chimique du noyau de datte Ghars**

Les noyaux de dattes renferment un taux d'humidité de 9%, déterminé par le séchage de 1 g de PDN à 105°C jusqu'à un poids sec. Par conséquent les noyaux de dattes étudiés sont riches en matière sèche (MS) avec un pourcentage de 91%, ce qui leur confère



une grande dureté. Ce taux élevé en MS contribue ainsi à une bonne conservation des noyaux en vue d'un usage ultérieur.

**Tableau I.-** Composition chimique du noyau de datte

Composant	% poids sec
Humidité	9
Cendres	2,23
Protéines	8,25
Lipides	6,58

BESBES *et al.* (2004), rapportent que le noyau de dattes se compose de 7,76% de lipides pour la variété Allig et 8,92% de lipides pour la variété Deglet Nour [4]. HAMADA *et al.* (2002) notent que le noyau de dattes contient 7,1% à 10,3% d'humidité, 5% à 6,3% de protéines; 9,9 % à 13% de lipides et 1 % à 1,8% de cendres pour trois variétés étudiées (Fard, Khalas et Lulu) [5].

La composition en acides gras déterminée par la CPG est donnée dans le tableau II. L'huile extraite des noyaux de dattes est caractérisée par la présence de 5 acides gras majeurs (C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub>, C<sub>18-1</sub>, C<sub>18-2</sub>). L'acide oléique est l'acide dominant avec 44,06 %. Ces résultats sont similaires à ceux notés dans le tableau II pour l'extrait d'huile de noyaux de dattes Ghars cultivées à Ouargla [6].

BESBES *et al.* (2005) [16]; signalent que l'huile de noyaux de dattes non traités est composée de mêmes acides gras et, l'acide oléique (C<sub>18-1</sub>) y est majoritaire avec un taux de 41,3% dans les noyaux de Deglet Nour et 47,7% dans la variété Allig. L'huile extraite des noyaux de Deglet Nour est composée à 44,3% d'acides saturés et à 41,45% d'acides insaturés, une composition différente de celle de notre huile. Les résultats obtenus restent élevés par rapport à celles données par ELSAKR *et al.* (1999) où l'huile de noyaux de dattes, variété Agwa est composée de 2,57% de (C<sub>18-1</sub>), 11,25% de (C<sub>18</sub>), 1,24% de (C<sub>12</sub>) et 3,25% de (C<sub>14</sub>) [17]. L'huile riche en acides gras insaturés est généralement sensible à l'oxydation.

**Tableau II.-** Composition de l'huile en acides gras

Acides gras	%	% [6]
Laurique C 12	13,05	22,17
Myristique C 14	9,35	10,28
Myristoleique C14-1	/	1,14
Palmitique C 16	12,9	10,53
Stéarique C 18	5,03	3,36
Oleique C 18-1	44,06	43,91
Linoleique C 18-2	13,88	7,8
Linolinique C 18-3	0,47	0,42
Arachidique C20	0,56	0,38
Gadoléique C20-1	0,42	/
Béhénique C22	0,25	/
Saturés	41,14	46,72
Mono-insaturés	44,48	43,91
Polyinsaturés	14,35	9,36

## 2.2.- Dosage des acides uroniques

La poudre de noyaux de dattes contient 2,22% d'acides uroniques alors que l'extrait à l'acide sulfurique est composé de 0,3% d'acides uroniques. Cette valeur est proche de celle trouvée dans les noyaux de dattes tunisiennes de la variété Smeti, où les acides uroniques représentent 2,60% de matière sèche [18]. Les acides uroniques sont sous forme de traces dans l'extrait à l'acide sulfurique des noyaux de dattes [19]. La variété Ghars est pauvre en acides uroniques, alors que la variété étudiée dans le travail de ISHRUD *et al.* (2003) est composée de 10,8% d'acides uroniques [10].

## 2.3.- Etude des polysaccharides de la poudre selon le protocole du laboratoire CERMAV

### 2.3.1.- Rendements et composition en monosaccharides des extraits

La poudre a subi une extraction à l'eau froide, qui a donné un rendement de 2,04%. Le traitement de la poudre au chlorite de sodium, un agent de blanchissement, permet d'extraire les lignines avec un rendement de 6,42%. Après extraction des lignines, le résidu (holocellulose) représente 54,03% de la masse de départ de PDN. L'holocellulose est constituée à 43,48% d'hémicelluloses.

**Tableau III.-** Bilan quantitatif

Fraction	Masse (mg)	Rendement (1)	Rendement (2)
Extrait à l'eau froide			2,04%
Lignines	256,8		6,42%
Extrait NaOH 5%	219,0	10,13%	5,48%
Extrait NaOH 10%	620,6	28,72%	15,52%
Extrait NaOH 17,5%	100,1	4,63%	2,50%
Extrait cellulosique	513,5	23,76%	12,84%
Total			44,8%

<sup>(1)</sup>Rendement par rapport à 2,161g du résidu après extraction des lignines

<sup>(2)</sup>Rendement par rapport à 4 g de poudre PDN traitée à l'eau froide

Au vu des résultats, il est constaté que l'essentiel de l'extraction est effectué dans les deux premières opérations, c'est à dire pour les concentrations en NaOH 5% et NaOH 10% puisque lors de l'extraction dans une solution de NaOH 17,5%; le rendement est faible (4,63%). Ceci peut être expliqué par un appauvrissement de la matière végétale en polysaccharides alcalino-extractibles ou bien par l'inaccessibilité de la paroi végétale [20]. L'accroissement du rendement en augmentant la concentration de NaOH a été démontré dans deux études: L'extraction des hémicelluloses de bois par une solution de NaOH à différentes concentrations 1,5%; 3%; 5%; 7,5%; et 8,5% de NaOH à 25°C pendant 16 heures, solubilise respectivement 65,5%; 71,6%; 73,8%; 85,6% et 89,3%. Lors de l'extraction alcaline à partir de l'épi de maïs cru à 25°C, le pourcentage d'extraction augmente jusqu'à une concentration de 10% en NaOH [21].

### 2.3.2. Etude des différentes fractions isolées par la CPG, selon la méthode réduction/acétylation

En regardant les résultats mentionnés dans le tableau IV, l'hydrolyse complète des polysaccharides contenus dans la poudre PDN, par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 72% suivie par une autre par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 4%, pendant 5 heures, montre qu'elle est composée de 72,23% de sucres neutres.

L'analyse par la CPG de l'extrait à l'acide sulfurique indique que la poudre est riche en mannose (79,58%) et en glucose (14,31%) et contient 3,42% de galactose, ceux-ci proviennent des hémicelluloses au cours de la délignification. Le galactose est un sucre nutritif essentiel dans la germination du noyau et est stocké sous forme de mannanes ou galactomannanes dans l'endosperme des grains dans la plupart des angiospermes [20].

L'extraction à l'eau froide est effectuée pour retirer les sucres simples et les minéraux, le rendement en sucres est estimé à 13,89%. L'analyse de cet extrait par la CPG en utilisant la méthode réduction /acétylation révèle que le mannose est le sucre majoritaire (39%) suivi par le glucose (26,23%) et le galactose (15,67%). Les extraits hémicellulosiques présentent globalement les mêmes sucres et en augmentant la concentration de NaOH de 5% à 17,5%, les extraits s'enrichissent en mannose qui passe de 53,89% à 95,39%, et s'appauvrissent en glucose (de 23,83% à 1,03%), il en est de même pour le xylose qui passe de 7,36% à des traces, et le galactose de 4,48% à 2,18%. Ce qui est traduit par l'élimination des polysaccharides riches en mannose. Le rendement d'hydrolyse augmente de 46,14% à 49,36% lorsque la concentration de NaOH augmente, il atteint un maximum avec NaOH à 17,5%, ce qui peut être interprété par une limitation d'extraction des polysaccharides pariétaux.

**Tableau IV.-** Composition en sucres des différents extraits par CPG (Réduction/Acétylation) et composition monosaccharidique (% molaire)

Fraction	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc
Extrait l'acide sulfurique (72%)	Tr	tr	1,40	1,01	79,58	3,42	14,31
Résidu après traitement par l'acide sulfurique (72%)	Tr	tr	1,44	1,15	77,50	6,93	13,96
Extrait à l'eau froide	Tr	13,53	5,51	tr	39,04	15,67	26,23
Extrait au chlorite de sodium/acide acétique	0,99	1,45	13,20	5,52	43,45	7,17	28,18
Extrait NaOH 5%	4,70	1,36	4,48	7,36	53,38	4,48	23,83
Extrait NaOH 10%	tr	tr	2,53	0,64	89,60	5,38	1,83
Extrait NaOH 17.5%	tr	tr	1,39	tr	95,39	2,18	1,03
Résidu cellulosique	nd	nd	1,03	nd	72,59	2,73	22,62

Ara: arabinose; Rha: rhamnose; Fuc: fucose ; Xyl: xylose; Man: mannose; Gal: galactose; Glc: glucose; tr: traces(< 0,5%), nd: non-identifié.

### 2.3.3.- Chromatographie en phase gazeuse: méthode des méthylglycosides-O-triméthyles (TMS)

Pour vérifier si les extraits contiennent des acides uroniques (acide glucuronique, acide galacturonique), chose qui n'est pas donnée par la méthode de réduction /acétylation, les extraits hémicellulosiques sont analysés au CPG après dérivation en méthylglycosides trimethylsilylés. Les résultats sont groupés dans le tableau V. Les extraits hémicellulosiques ne contiennent pas d'acide galacturonique mais une faible teneur en acide glucuronique (<1,5%). Le mannose est toujours le sucre en proportion majoritaire (60,55% à 95,98%), la teneur du glucose baisse de 16,48% à 1,10% et disparaît dans la fraction de NaOH à 17,5%. Le xylose qui est le deuxième sucre présent passe de 12,81% à 1,96%, la concentration molaire en arabinose diminue et passe de 7% à 1,34%. Il se constate aussi la présence du rhamnose et du fucose (< 5%) et l'absence totale du galactose qui a été détecté par la méthode de réduction/acétylation. Le mannose est présent en forte proportion dans la poudre de noyaux de dattes.

**Tableau V.-** Composition monosaccharidique des hémicelluloses par la méthode des TMS Méthylglycosides-O-triméthyles

Echantillon	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	GalA	Glc	GlcA
NaOH 5%	2,14	0,15	6,99	12,81	60,55	0,0	0,0	16,48	0,87
NaOH 10%	0,75	0,0	2,84	1,96	93,06	0,0	0,0	1,10	0,31
NaOH 17,5%	0,71	0,08	1,34	1,66	95,98	0,0	0,0	0,0	1,22

Ara: arabinose; Rha: rhamnose; Fuc: Fucose; Xyl: xylose; Man: mannose; Gal: galactose; Glc: glucose; tr: traces (< 0,5%)

Les résultats montrent que la dépolymérisation des polysaccharides est notable car la quantité de sucres a augmenté pour les 3 échantillons, comparés aux résultats donnés par la chromatographie en phase gazeuse effectuée par la méthode réduction/ acétylation.

Les résultats montrent que les extraits “NaOH 5%, NaOH 10% et NaOH 17,5%” sont composés de mélanges hétérogènes de polysaccharides comprenant 82,64% d’oses neutres et 0,87% d’acides uroniques pour l’extrait NaOH 5%, composé de 98,61% d’oses neutres et 0,31% d’acides uroniques pour l’extrait NaOH 10%, et 99,77% d’oses neutres et 1,22% d’acides uroniques pour l’extrait NaOH 17,5%.

L’extraction des hémicelluloses avec NaOH à 5% a donné une fraction qui contient 60,55% de mannose et 16,48% de glucose. Le rapport en Man: Glu est de l’ordre de 3:1. Ce qui est probablement dû à la présence d’un glucomannane comme polysaccharide dans la poudre de noyaux de dattes. Alors que la fraction obtenue par l’extraction à 10% et à 17,5% de soude est riche en mannose et, plus la concentration en soude augmente, plus le glucose diminue dans la fraction. Ce qui montre que la poudre de noyaux de datte contient un mannane pur.

Les noyaux de dattes de la variété Ghars contiennent des polysaccharides de type glucomanne. Le mannose qui est le sucre majoritaire rend le noyau de datte dur, difficile à concasser. ISHRUD *et al.* (2001), rapportent que les polysaccharides extraits de noyaux de certaines dattes lybiennes, sont constitués de chaînes de glucose et de mannose liées en  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) [9].

#### 2.4.- Caractérisation des hémicelluloses par spectroscopie infrarouge

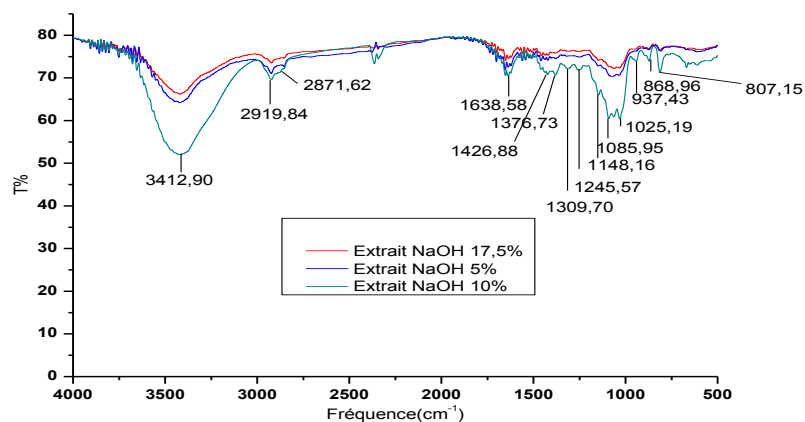
Les trois échantillons présentent les mêmes bandes d’absorption (fig. 2). Une bande large située à 3419  $\text{cm}^{-1}$  correspond aux vibrations d’elongation des liaisons O-H. Des bandes à 2919,84  $\text{cm}^{-1}$  et 2871,62  $\text{cm}^{-1}$  qui indiquent la présence des groupements  $-\text{CH}_2$ . Une bande fine située à 1638,58  $\text{cm}^{-1}$  est assignée à la vibration de torsion de la liaison H-O-H de la molécule d’eau. La disparition de la bande à 1518  $\text{cm}^{-1}$  attribuée aux liaisons C=C dans les cycles aromatiques, présents dans la structure des lignines [22], signifie que l’étape de la délignification de la poudre est bien réussie.

Les pics compris entre 1085,95  $\text{cm}^{-1}$  et 800  $\text{cm}^{-1}$  résultent de la vibration d’elongation des liaisons C-O dans C-O-H (liaisons glycosidiques des hémicelluloses) [23].

Les bandes d’absorption des autres échantillons sont données comme suit:  
Extrait NaOH 5%:  $\lambda$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3430,99 ; 2922,73 ; 2848,95 ; 1640,51 ; 1560 ; 1515,13 ;

1450,99; 1373,36 ; 1144,79 ; 1077,76 ; 870,86 ; 800.

Extrait NaOH 17,5%:  $\lambda$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3419,90 ; 2915,93 ; 2847,99 ; 1646,76 ; 1515,61 ; 1451,78 ; 1376,73 ; 1260,04 ; 1142,60 ; 1049,79 ; 947,56 ; 883,42 ; 807,23.



**Figure 2.-** Spectre infrarouge des extraits hémicellulosiques à la soude

## Conclusion

La poudre de noyaux de dattes est riche en composés chimiques et polysaccharidiques comme les hémicelluloses et la cellulose et comporte peu de pectines du fait que la quantité des acides uroniques est très faible.

L'analyse des extraits hémicellulosiques par la chromatographie en phase gazeuse, par les deux méthodes, la réduction/ acétylation et la méthode des méthylglycosides-O-triméthyles (TMS), indique que le mannose est le sucre majoritaire, suivi par le galactose et le glucose, ce qui fait que le noyau de datte est une source de mannose non négligeable. Les glucomannanes et les mannanes sont les hémicelluloses présents dans le noyau de dattes.

## Remerciements

Nous remercions M. Philippe Bressolier qui nous a permis de compléter l'analyse chimique de la poudre, au département génie biologique de l'université de Limoges (France).

## Références bibliographiques

- [1].- Ridacker A., 1980.- Physiologie des arbres et arbustes en zone aride. Ed. J. Libbey, Paris, Pp 323-327.
- [2].- Sayah Z. et Ould El Hadj M. D.; 2010.- Etude comparative et caractéristiques physico-chimique et biochimique des dattes de la cuvette de Ouargla. Annales des Sciences et Technologie, 2(1): 87-92.
- [3].- Al-Farsi M., Alasalvar C., Al-Abid M., Al-Shoaily K., Al-Amry M. et Al-Rawahy F.; 2007.- Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by –

- products. *Food Chemistry*, 104: 943-947.
- [4].- Besbes S., Deroanne C., Lognay G., Drira N-E. et Attia H.; 2004.- Quality characteristics and oxidative stability of date seed oil during storage. *Food Science Technology International*, 10 (5): 333-338.
- [5].- Hamada J. S., Hashim I. B. et Sharif F. A.; 2002.- Preliminary analysis and potential uses of dates pits. *Food Chemistry*, 76 (2): 135-137.
- [6].- Boukouada M. et Yousfi M.; 2009.- Phytochemical study of date seeds lipids of three fruits (*Phoenix Dactylifera L.*) produced in Ouargla region. *Annales de la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur*, 1(3): 66-74.
- [7].- Bokhari N. E. et Perveen K.; 2012.- In vitro inhibition potential of *Phoenix dactylifera L.* extracts on the growth of pathogenic fungi. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (6): 1083-1088.
- [8].- Ishrud O., Zahid M., Zhou H. et Pan Y.; 2012.- A water - soluble galactomannan from the seeds of *Phoenix dactylifera L.* *Carbohydrate Research*, 335: 297-301.
- [9].- Ishrud O., Zahid M., Ahmad V.U. et Pan Y.; 2001.- Isolation and structure analysis of a glucomannan from the seeds of Lybian dates. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49: 3772-3774.
- [10].- Ishrud O., Ali Y., Wanxing W., Bashir F., Ali A., Ashour A. et Pan Y.; 2003.- An alkali-soluble heteroxylan from seeds of *Phoenix dactylifera L.* *Carbohydrate Research*, 338: 1609-1612.
- [11].- Lecheb F.; 2010.- Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes: Essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soins. Mémoire de magistère, université M'Hamed Bougara, Boumerdes, Pp 33-36.
- [12].- Blumenkrantz N. et Asboe-Hansen G.; 1973.- New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54: 484-489.
- [13].- Joseleau J. P., 1980.- Les hémicelluloses. Ed. les polymères végétaux, Bordas, Pp 87-121.
- [14].- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Robers P. A. et Smith F.; 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356 (1956).
- [15].- Marga F., Freyssac V et Morvan H.; 1995.- Rapid gas liquid chromatography microanalysis of carbohydrates in woody plant tissues. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 13(4): 473-478.
- [16].- Besbes S., Blecker C., Deroanne C., Lognay G., Drira N- E. et Attia H.; 2005.- Heating effects on some quality characteristics of date seed oil. *Food Chemistry*, 91: 469-476.

- [17].- Elsagr A. S.; 1991.- Evaluation of date kernel oils and their effects on wheat flour characteristics. *Grasas Y Aceites*, 42 (3): 216-219.
- [18].- Mrabet A., Rodriguez-Gutiérrez G., Guillén-Bejarano R., Rodriguez-Arcos R., Ferchichi A., Sindic M. et Jiménez-Araujo A.; 2015.- Valorization of Tunisian secondary date variety (*Phoenix dactylifera* L.) by hydrothermal treatments: New fiber concentrates with antioxidant properties. *LWT-Food Science and Technology*, 60: 518-524.
- [19].- Hussein M., Helmy W. A. et Salem H. M.; 1998.- Biological activities of some galactomannans and their sulfated derivatives. *Phytochemistry*, 48 (3): 479-484.
- [20].- Habibi Y.; 2004.- Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie. Les polysaccharides pariétaux et caractérisation. Thèse de doctorat de l'université Cadi Ayyad (Marrakech) et université Joseph Fourier, Grenoble, Pp 1-222.
- [21].- Bouanani S., 2002.- Fractionnement des hémicelluloses des grignons d'olive et obtention d'oses d'intérêts pour les applications biotechnologiques. Mémoire de magistère, université Badji Mokhtar d'Annaba, pp 65.
- [22].- Xinliang L., Hongxiang Z., Chengrong Q., Jinghong Z., Joe Z. et Shuangfei W.; 2013.- Adsorption of heavy metal ion from aqueous single metal solution by aminated epoxy-lignin. *Bioresources*, 8 (2): 2257–2269.
- [23].- Cerqueira M. A., Bartolomen W. S. S., Simões J., Teixeira J. A., Domingues M. R. M., Cambra M. A., et Vicente A. A.; 2011.- Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. *Carbohydrate Polymers*, 83: 179-184.