

# EXTRACTION, CARACTERISATION PARTIELLE ET L'ACTIVITES ANTIOXYDANTES DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES DES NOYAUX DES DATTES: VARIETE GHARS

GHANIA Ahmed\*, BOUAL Zakaria et OULD EL HADJ-KHELIL Aminata  
Université Kasdi Merbah-Ouargla, Département de science biologiques,  
Ouargla 30000 Algérie.  
E- mail: [ahmedghania@gmail.com](mailto:ahmedghania@gmail.com)

**Résumé.-** L'objectif de notre étude est d'évaluer les activités biologiques des polysaccharides des noyaux de dattes Ghars après avoir extrait la fraction hydrosoluble des polysaccharides (PNDH). Les rendements massiques des extraits des polysaccharides sont de 0,87% pour PNDH. Les teneurs en oses totaux sont de 51,6% pour PNDH, Les oses neutres représentent les constituants majeurs. Les protéines représentent les plus faibles teneurs se situant entre 0,038% et 1,07%. L'analyse des hydrolysats à l'aide de la chromatographie sur couche mince a montré que PNDH est constitué de galactose, de mannose, de xylose, de l'arabinose, et de l'acide glucuronique. Les activités antioxydantes testées pour cet extrait est 41,8 $\mu$ mol/g pour une concentration de 1 mg/ml.

**Mots clés :** Noyaux de dattes, polysaccharides, hydrosolubles, activités antioxydantes.

## Introduction

Le Sahara, il y a une grande diversité des plantes et des arbres qui sont adaptés au climat désertique pour vivre dans ces conditions extrêmes. Parmi ces plantes et la plus connue dans le milieu oasien c'est " le palmier dattier "[1].

Les sous-produits du palmier dattier (tronc, feuilles, pédicelles....) sont exploités par les habitants du Sahara, en particulier, les noyaux des dattes sont valorisés à grande échelle [2].

De nombreux travaux de recherche consacrés à la valorisation des noyaux de dattes sous forme d'acideacétique [3] ,de charbon actif [4], alimentation de bétail [5], crèmecosmétique à base de noyaux de dattes [6]. Ces noyaux sont composés d'un galactomannane pour les polysaccharides hydrosolubles [7] et un hétéroxylane pour les polysaccharides alcalisolubles [8].L'intéresse à l'extraction et la caractérisation des polysaccharides hydrosolubles des noyaux des dattes dans un premier temps et l'évaluation de leurs activités antioxydantes.

## 1.- Matériel et méthodes

### 1.1.- Matériels biologiques

Le matériel biologique utilisé est constitué des noyaux de dattes (*Phoenix dactylifera*) de cultivars *Ghars* de la région d'Oued Souf, récolté en Octobre 2014. Le sang est prélevé à partir des volontaires sains, le jour même de son utilisation au niveau du laboratoire IBN ROCHD Ghardaïa. L'absence d'antigène HBs, d'anticorps anti-VIH et d'anticorps anti-VHC est vérifiée. Des souches bactériennes sont utilisées. Il s'agit de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

### 1.2.- Etude des polysaccharides

#### 1.2.1.- Extraction des polysaccharides

Une quantité de 15gde poudre de noyau de datte est placée dans une cartouche de soxhlet avec 125 ml d'éther de pétrole pendant 8h et 30 min comme temps d'immersion et 60 min comme temps de lavage. L'opération est répétée 12 fois [9]. Après délipidation, la poudre de noyau de dattes est séchée à l'air puis, on lui ajoute 250ml d'eau distillée et l'ensemble est placé au bain Marie pendant 2h à 80°C [10] avec une agitation constante.

Après la macération, on procède à une centrifugation à 4000xg pendant 12mn et le surnageant est récupéré [11]. Une deuxième extraction est faite suivant le même protocole puis les deux surnageants sont réunis. L'ajout de 3 volumes d'éthanol à 96% pendant 24h et à une température de 4°C pour lapréciptation des polysaccharides. Après centrifugation à 4000xg pendant 12min, le culot est récupéré, lavé trois fois par l'acétone puis lyophilisé [12].

#### 1.2.2. - Composition des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles

En milieu sulfurique à chaud, les oses totaux produisent des dérivés du furfural (dérivés aldéhydiques du furane) qui se condensent avec le phénol pour donner un complexe de couleur orange-jaune [13]. En milieu acide et à chaud, les oses neutres produisent des dérivés du furfural qui se condensent avec le résorcinol pour donner un complexe de couleur brun jaune [13]. Dans un milieu acide à chaud, les oses sont transformés en dérivés furfuraliques. Les acides uroniques transformés en dérivés furfuraliques se condensent avec le m-phénylphénol (ou métahydroxydiphényl, MHDP) pour former un complexe de couleur rose [14]. Cette méthode est basée sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu acide, ce colorant s'adsorbe (fixation par des liaisons non covalentes) sur les protéines, et forme un complexe coloré représentant un maximum d'absorption à 595nm. Le changement de colorations se mesure facilement par spectrophotométrie [15]

### 1.2.3.- Hydrolyse acide des liaisons Glycosidiques

Dans des flacons de petit volume 25mg de l'extrait brut de polysaccharides hydroalcalisoluble est mélangé avec 1ml d'acide Trifluoroacétique de 2M. Le mélange est chauffé à 100°C à l'étuve pendant 4h puis refroidi au bain de glace et récupéré dans des boîtes de Pétri de petit volume, quelques gouttes de méthanol sont ajoutées. Les boîtes de Pétri sont déposées dans un dessiccateur sous vide pendant 24h. Après évaporation et séchage total de l'hydrolysate, un volume de 500µl de l'eau distillée est ajouté. Les hydrolysats sont récupérés dans des eppendorfs [16].

### 1.2.4.- Chromatographie sur couche mince

Deux phases mobiles sont utilisées pour la séparation :

- la phase mobile 1 est constituée d'acétate d'éthyle- méthanol- nbutanol-eau distillée dans un rapport de 16-3-3-2 respectivement [17].
- la phase mobile 2 est constituée de chloroforme-nbutanol-méthanol-eau distillée-acide acétique dans un rapport de 4,5-12,5-5-1,5-1,5 [18] .

La phase stationnaire présente des plaques en gel de silice qui sont activées avant l'utilisation dans l'étuve à 100°C pendant 5min.

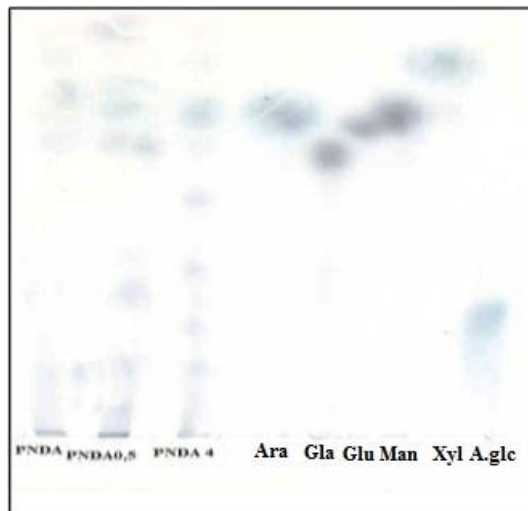
### 1.2.5.- Evaluation de pouvoir antioxydant

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des plantes. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons utilisé différents tests chimiques à savoir ; le test Ferric Reducing/Antioxydant Power assay (FRAP) qui permet de mesurer le pouvoir de la réduction des ions de fer, et l'effet scavenger sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le sel d'ammonium de l'acide 2, 2'-azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS). [19]

## 2.- Résultats et discussion

Les oses totaux sont plus élevés dans la fraction alcalisoluble PNDA 4 soit 34,825% et la fraction hydrosoluble PNDH (27,79%), Le contenu osidique de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble des noyaux de dattes (PNDH) est de 51,6%. Les oses neutres sont les constituants majeurs des trois extraits, mais il y a une variation entre les extraits. En effet, leurs teneurs dans PNDH 46,823% . Les teneurs en protéines des extraits des polysaccharides hydrosolubles et alcalisolubles obtenus par la méthode de BRADFORD (1976), sont de 0,6% pour PNDH. L'hydrolyse acide des extraits polysaccharidiques par le TFA permet d'observer des taches ayant différents R<sub>f</sub>. Le premier système a montré l'apparition de 11 taches pour l'ensemble des extraits, le

deuxième système a montré 12 taches pour tous les extraits.

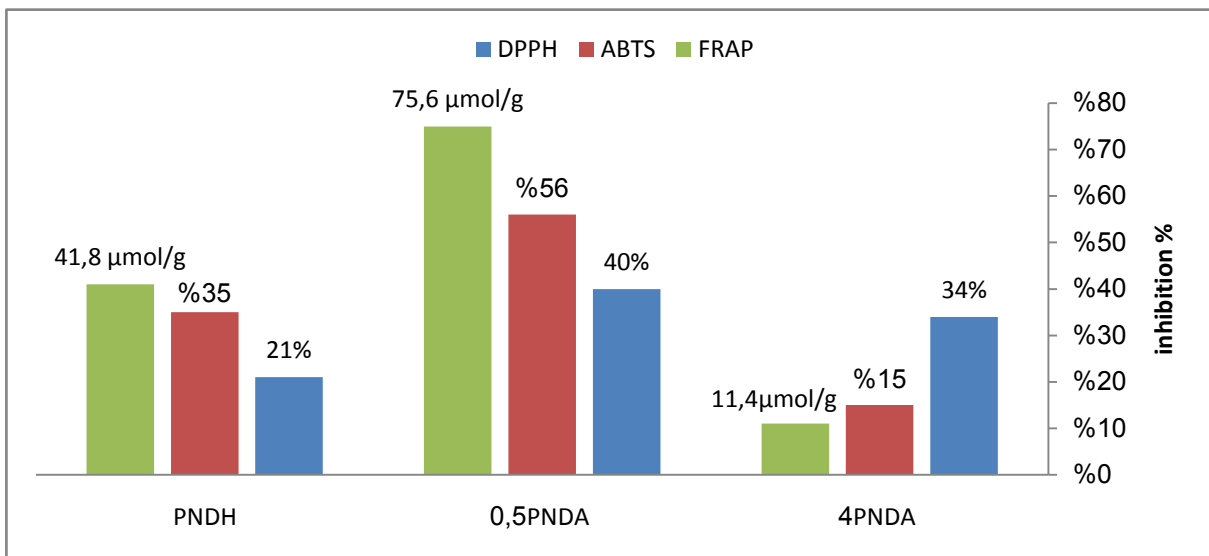


**Figure 1.-** Chromatogramme des extraits polysaccharidiques des hydrolysats hydrosoluble système 1



**Figure 2.-** Chromatogramme des extraits polysaccharidiques des hydrolysats hydrosoluble système 2

Trois méthodes différentes sont utilisées pour étudier l'activité antioxydante, puisque, les résultats d'une seule méthode ne peuvent donner qu'une suggestion réduite de l'activité antioxydante. Les résultats obtenus à partir de ces méthodes sont regroupés dans la Figure 21. Les valeurs de l'activité antioxydante sont exprimées en % qui indique le pourcentage d'inhibition de radical libre.



**Figure 3 .-** Activité antioxydante des différentes fractions à la concentration 100 µg/ml par trois tests : DPPH, ABTS et FRAP

## Conclusion

L'étude de la composition des extraits brut hydrosoluble et alcalisoluble après la lyophilisation, donne des valeurs d'oses totaux 51,6% pour PNDH 46,823% pour PNDH et 37,36% pour 4,3,44% pour PNDH, sont des oses acides. Les protéines comme un deuxième constituant majeure des extraits brut des polysaccharides et à un taux inférieure de 2%.

L'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM) pour les oses des trois extraits hydrolysés par l'acide trifluoroacétique 2M pendant 4h à la température 100°C, montre que l'extrait hydrosoluble (PNDH) à une hétérogénéité et diversité d'oses neutres et acides, de pentoses et hexoses. L'activité antioxydante des trois extraits testés par les trois méthodes DPPH, ABTS, FRAP à une concentration de 10 µg/µl montre un pouvoir antioxydant allant jusqu'à 75,6 µmol/g pour l'extrait de PNDH.

## Références bibliographiques

- [1].- Ardekani M R S., Khanavi M., Hajimahmoodi M., Jahangiri M., Hadjiakhoondi A., 2010.- Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenol Contents of some Date Seed Varieties from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research volu;r9 , Pages 141-146
- [2].- Ishrud O., Zahid M., Zhou H., Pan Y., 2001. -A water-soluble galactomannan from the seeds of Phoenix dactylifera L. Carbohydrate Research, Volume 335, Issue 4, Pages 297-301

- [3].- Ishurd O., Ali Y., Wei W., Bashir. F., Ali A., Ashour A., Pan Y., 2003. -An alkali-soluble heteroxylan from seeds of Phoenix dactylifera L. Carbohydrate Research, Volume 338, Issue 15, Pages 1609-1612
- [4].- Athukorala Y., Jung W K., Vasanthan T., Jeon Y. J., 2006.- An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of Ecklonia cava. Carbohydrate Polymers, vol. 66: 184-191.
- [5].- Baliga M.S., Baliga B. R.V., Kandathil S. M., Bhat H.P., Vayalil P. K., 2011.- A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (Phoenix dactylifera L.) Food Research International. Food Research International, Volume 44, Issue 7, Pages 1812-1822
- [6].- Besbes S., Blecker C., Deroanne C., Drira N E., Attia H., 2004. - Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction. Food Chemistry, volume 84 pages 577-584
- [7].- Blumenkrantz N. And Asboehansen G., 1973- New Method for Quantitative Determination of Uronic Acid. Analytical biochemistry, vol. 54: 484-489.
- [8].- Bouchemal N., Merzougui Z., Addoun F., 2011. - Adsorption en milieux aqueux de deux colorants sur charbons actifs à base de noyaux de dattes. Journal de la Société Algérienne de Chimie. 21(1), 1-14.
- [9].- Boudechiche, L., Araba, A., Tahar, A., Ouzrout, R., 2009.- Etude de la composition chimique des noyaux de dattes en vue d'une incorporation en alimentation animale. Institut d'Agronomie, Centre Universitaire d'El Tarf.
- [10].- Bradford M M., 1976.- A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical biochemistry, vol. 72: 248-254.
- [11].- Brudieux V., 2007.- Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. A l'occasion de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 220p.
- [12].- Bruneton J., 2009.- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ième Ed. Lavoisier, 1268p
- [13].- Burnat B., Walkowiak-Przybyło M., Błaszczyk T., Klimek L., 2013.- Corrosion behaviour of polished and sandblasted titanium alloys in PBS solution. vol. 15: 87-95.

- [14].- Cai W., Xu H., Xie L., Sun J., Sun T., Wu X., Fu Q., 2016. - Purification, characterization and in vitro anticoagulant activity of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge roots. *Carbohydrate Polymers*, Volume 140, Pages 308-313
- [15].- Caquet R., 2004.-250 examens de laboratoire. 11<sup>ème</sup> Ed Masson. Paris 380 p
- [16].- Chaira N., Ferchichi A., Mrabet A., Sghairoun M., 2007.- Chemical Composition of the Flesh and the Pit of Date Palm Fruit and Radical Scavenging Activity of Their Extracts. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2202.2207p
- [17].- Chen Y., Song M., Wang Y., XIONG W., ZENG L., ZHANG S., XU M., DU H., LIU J., WANG D., WU Y., HU Y., 2015.- The anti-DHAV activities of Astragalus polysaccharide and its sulfate compared with those of BSRPS and its sulfate. *Carbohydrate Polymers*, vol. 117: 339–345.
- [18].- Ding H. H., Cui S. W., Goff H. D., Wang Q., Chen J., Han N. F., 2014.- Soluble polysaccharides from flaxseed kernel as a new source of dietary fibres: Extraction and physicochemical characterization. *Food Research International*, vol. 56: 166-173.
- [19].- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. D., Rebers P. A., Smith F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, vol. 28: 350-356.