

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



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :  
N° de série :

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

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

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

**Filière :** Biologie

**Spécialité :** Biochimie Appliqué

**Par :** OULAD MEBAREK Mohammed

REFFIS Mohammed

**Thème**

Evaluation de l'activité antioxydante des extraits  
aqueux de deux variétés des dattes Ajwa et  
Tazerzait

**Soutenu publiquement le : 23/05/2017**

**Devant le jury :**

<b>M. BENBEKHTI Zineddine</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Président</b>
<b>M. BELHACHEMI Mohamed Habib</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
<b>M. BENKHERARA Salah</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examinateur</b>
<b>M<sup>elle</sup> BENSANIA Wafaa</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examinatrice</b>

**Année universitaire 2016/2017**

# Remerciements

*Au terme de ce travail, Nous remercions Dieu «Tout Puissant» de nous avoir accordés la force et le courage afin de réaliser ce modeste travail.*

*Nous adressons toute notre reconnaissance à notre Directeur Monsieur **BELHACHEMI Mohammed habib**, maitre-assistant A au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa. Nous vous remercions de nous avoir accueillis chaleureusement, de nous avoir soutenues durant des périodes tempétueuses, merci de nous avoir fait bénéficier de votre pédagogie, votre écoute, votre ouverture d'esprit et votre disponibilité malgré votre emploi du temps surchargé.*

*Nous remercions Monsieur **BENBEKHTI Zineddine**, maitre-assistant A au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa, Nous sommes particulièrement honorés de vous avoir vu assurer la Présidence de ce Jury, mais aussi pour votre présence et vos conseils tout au long de ces années.*

*Nos remerciements s'adressent également à Monsieur **BENKHERARA Salah** et Mademoiselle **BENSANIA wafaa** maitres-assistants A au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous sommes très honoré d'avoir bénéficié de vos remarques et corrections. Nous tenons à vous assurer de notre grande estime et de notre profonde gratitude, merci pour toute votre attention, votre disponibilité et pour tous vos précieux conseils.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à tous les ingénieurs des laboratoires de l'université, pour l'effort fourni, l'esprit scientifique, la disponibilité et la gentillesse.*

*Nous présentons nos remerciements les plus sincères au Laboratoire d'analyse médical «IBN ROCHD» en particulier son Directeur Dr. AMMI SAÏD Mustapha de nous avoir accueilli au sein du laboratoire.*

*Enfin, tout ceci n'aurait pas été possible sans le soutien de nos familles et de nos amis, bien qu'ils l'ignorent sûrement. Nous espérons que ces quelques mots leur témoigneront de notre sincère gratitude.*

*A nos chers parents : «merci, ce travail est le vôtre»*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

*Mes chers parents, mon bonheur, mon exemple, ma fierté, à qui je dois tout. Que dieu les préserve.*

*A mes frères Bilal, Sofiane, et ma chère sœur.*

*Ainsi qu'à mes frères de cœur : Reffis M., T. Rostom, C.*

*Brahim, B. Bachir.*

*A toute ma famille pour tous ses encouragements.*

*A toute la promotion 2016-2017*

*Que dieu leur accorde santé et prospérité.*

*A la mémoire de ma grand-mère*

*Je dédie ce modeste travail*

*Oulad Meharek Mohammed*

## *Dédicace*

*A mes chers parents qui m'ont prodigué soutien et conseils.*

*A mes frères et mes sœurs.*

*A mon épouse pour son appui moral et son aide tout le long de ce travail.*

*A mon binôme Mohammed qui m'a accompagné durant mes années d'études.*

*A tous mes amis qui ont toujours été à mes côtés dans les bons et les mauvais moments.*

*A tous mes collègues de l'université de Ghardaïa en particulier les étudiants de la 1<sup>ère</sup> promotion Master Biochimie*

*Je dédie ce travail.....*

*Mohammed R.*

## Résumé

Cette étude était pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des extraits du fruit de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) à partir de 2 cultivars sélectionnés (Ajwa et Tazerzait). Les polysaccharides bruts (Ps) et les extraits aqueux (Aq) des dattes Ajwa et Tazerzait ont été extraits à l'aide d'eau distillée. Les rendements varient entre (1.5 et 2.6 %) pour les extraits bruts des polysaccharides et entre (24 et 35 %) pour les extraits aqueux. Les activités antioxydantes des extraits ont été évaluées in vitro en utilisant les tests DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) et ABTS (2,2'-azinobis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonate)). Les résultats ont révélé que Ps et Aq présentaient des activités antioxydantes dépendantes de la concentration et que celle de Ps était significativement importante et voisinant de celle des témoins (BHT et Vitamine C). Ces résultats devraient donc constituer une base scientifique pour l'utilisation ultérieure des polysaccharides à partir des dattes.

**Mots clés :** Activité antioxydant, Ajwa, Tazerzait, Polysaccharides, Extrait Aqueux.

## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) من صنفين مختارين (عجوة وتزرزابت). حيث تم استخلاص السكريات المتعددة والمستخلصات المميهة من تمر هذين الصنفين وذلك باستعمال الماء المقطر. وتراوح المردود بين (1.5 و 2.6٪) بالنسبة لمستخلص السكريات المتعددة وبين (24 و 35٪) للمستخلصات المميهة. تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة من المستخلصات في المختبر باستخدام اختبارات DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) و ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) وقد أظهرت النتائج أن لمستخلص السكريات المتعددة فعالية كبيرة ومشابهة لتلك التي أظهرتها الشواهد المستعملة في تثبيط هذين العنصرين. لذلك ينبغي أن توفر هذه النتائج أساسا علميا للبحوث اللاحقة والمتعلقة بالتمر.

**الكلمات الدالة:** النشاط المضاد للأكسدة، عجوة، تزرزابت، السكريات المتعددة، المستخلصات المميهة.

## **Abstract**

The aims of this study were to evaluate the antioxidant activity of the extracts of the date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) from 2 cultivars selected (Ajwa and Tazerzait). The crude polysaccharides (Ps) and the aqueous extracts (Aq) of Ajwa and Tazerzait dates were extracted with distilled water. The yields varied between (1.5 and 2.6%) for the crude extracts of the polysaccharides and between (24 and 35%) for the aqueous extracts. The antioxidant activities of the extracts were evaluated in vitro using DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) and ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) tests). The results revealed that Ps and Aq exhibited a dose-dependent antioxidant activities and that Ps was significantly important and similar to that of controls (BHT and Vitamin C). These results should therefore provide a scientific basis for the subsequent use of polysaccharides from dates.

**Keywords:** antioxidant activity, Ajwa, Tazerzait, Polysaccharides, Aqueous Extracts.

## Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ROS ou ERO : Espèces réactives de l'oxygène

RNS : Espèce réactive d'azote

ABTS : l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

ha : Hectare

Kg : Kilogramme

hab : Habitant

cm : Centimètre

% : Pourcentage

g : Gramme

mg : Milligramme

µg : Microgramme

Da : Dalton

O<sub>2</sub><sup>•-</sup> : Anion superoxyde

NO<sup>•</sup> : Monoxyde d'azote

<sup>1</sup>O<sub>2</sub> : Oxygène singulet

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène

HOCl : Acide hypochloreux

ONOO<sup>-</sup> : Peroxynitrite

NBT: Nitrobleu tetrazolium

UV : Ultraviolet

nm : Nanomètre

EDTA : Acide Éthylène Diamine Tétra-Acétique

pH : Potentielle Hydrogène

TEAC : Trolox equivalent antioxidant capacity

EC<sub>50</sub> : Concentration efficace qui donne 50% d'effet ou d'activité

Trolox : Acide 6- hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique

$\lambda$  : Longueur d'onde

HO<sup>•</sup> : Radical hydroxyle

BHT : Butylhydroxytoluène

SOD : Superoxyde dismutase

Aq : Aqueux

Ps : Polysaccharides

M : Molarité

mM : milli Molarité

rpm : Tour Par Minute.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Répartition géographique des dattes dans le monde (FAOStat, 2014).....	4
<b>Figure 2</b> : Anatomie de la datte et noyau du palmier dattier (Ghnimi et al., 2017).....	7
<b>Figure 3</b> : Structure linéaire de la molécule d'amylose (Gaël, 2005).....	13
<b>Figure 4</b> : Structure ramifié de molécule de l'amylopectine (Weinman and Méhul, 2004).....	13
<b>Figure 5</b> : Structure linéaire de la molécule de cellulose (Arneson et al., 2007).....	14
<b>Figure 6</b> : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).....	16
<b>Figure 7</b> : Structure du radical stable DPPH <sup>•</sup> (Trizitis and Bartroz, 2010). ....	18
<b>Figure 8</b> : Formation, et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant (NADAL, 2010).....	19
<b>Figure 9</b> : Différentes étapes de l'extraction aqueuse par macération à partir des dattes (Shraideh et al., 1998; Khaled, 2000; Ameer and Allaith, 2008; Belmir et al., 2015).....	22
<b>Figure 10</b> : Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosoluble des dattes (Ishurd et al., 2002).....	23
<b>Figure 11</b> : Rendement des extraits aqueux.....	26
<b>Figure 12</b> : Rendement des extraits bruts des polysaccharides.....	26
<b>Figure 13</b> : Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits aqueux (test d'ABTS).....	27
<b>Figure 14</b> : Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits aqueux (test DPPH). ....	28
<b>Figure 15</b> : Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits bruts des polysaccharides (test d'ABTS). ....	28
<b>Figure 16</b> : Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits bruts des polysaccharides (test DPPH).....	29

## Liste des photos

- Photo 1 : Deux variétés de datte (à droite Bentkbala, à gauche Taneslit) (originale, 2017).....7*
- Photo 2 : Date et noyau de la variété Ajwa (originale, 2017).....20*
- Photo 3 : Date et noyau de la variété Tazerzait (originale, 2017).....20*

## Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Les dix pays les plus producteurs des dattes au monde (FAOStat, 2014) .....</i>	<i>5</i>
<i>Tableau 2 : Les dix-sept wilayas productrices des dattes en Algérie (Blama et al., 2014).....</i>	<i>6</i>
<i>Tableau 3 : Stade de maturation et principales appellations.....</i>	<i>8</i>
<i>Tableau 4 : Composition des différents éléments nutritifs de la datte (Baliga et al., 2011). .....</i>	<i>9</i>
<i>Tableau 5 : Les vitamines contenues dans la datte (Baliga et al., 2011). .....</i>	<i>9</i>
<i>Tableau 6 : Les métabolites secondaires contenues dans la datte (Baliga et al., 2011).....</i>	<i>10</i>
<i>Tableau 7 : Sels et minéraux (Baliga et al., 2011). .....</i>	<i>10</i>
<i>Tableau 8 : Principaux Acides aminés (Baliga et al., 2011).....</i>	<i>11</i>

## Table des matières

Remerciements

Dédicace

Dédicace

Résumé (Français)

Résumé (Arabe)

Résumé (Anglais)

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction Générale

### Partie I: Synthèse bibliographique

#### Chapitre I Le palmier dattier et les polysaccharides

1. Généralité .....	3
2. Position systématique .....	3
3. Répartition géographique en Algérie et dans le monde .....	4
3.1. Dans le monde.....	4
3.2. En Algérie .....	5
4. Le fruit du palmier dattier (la datté) .....	6
4.1. Définition .....	6
4.2. Les étapes de fructification du palmier dattier.....	7
4.3. Composition chimique .....	8
5. Les polysaccharides.....	11
5.1. Définition .....	12
5.2. Classification des polysaccharides.....	12
5.2.1. Leur composition en monomères .....	12
5.2.2. Leur degré de ramification .....	12
5.2.3. Leur fonction biologique .....	13

#### Chapitre II Le stress oxydatif

1. Les radicaux libres .....	15
------------------------------	----

2.	Les antioxydants.....	16
3.	Méthodes d'évaluations in vitro de l'activité antioxydante .....	17
4.	Les tests de Piégeage des radicaux spécifiques.....	17
4.1.	Piégeage du radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) .....	17
4.2.	Piégeage du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ scavenging activity).....	17
4.3.	Piégeage du radical hydroxyle ( $HO\bullet$ ) .....	18
5.	Testes de Piégeage des radicaux libres non biologiques.....	18
5.1.	Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH $\bullet$ ) .....	18
5.2.	Piégeage du radical 2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate] (ABTS) ou Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC).....	19

## Partie II: Etude expérimentale

### Chapitre III Matériels et méthodes

1.	Matériel .....	20
1.1.	Matériel végétal .....	20
1.2.	Produits chimiques.....	21
2.	Méthodes d'extraction.....	21
2.1.	Extraction aqueuse par macération (Aq) : .....	21
2.2.	Extraction des polysaccharides (Ps).....	22
2.3.	Calcul du rendement .....	23
3.	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	23
3.1.	Activité anti radicalaire par la méthode ABTS.....	24
3.2.	Activité anti radicalaire par la méthode DPPH.....	24
4.	Etude statistique .....	25

### Chapitre IV Résultats et discussion

1.	Rendement en extraits secs des extraits aqueux et des polysaccharides .....	26
2.	Evaluation de l'activité antioxydante .....	27
2.1.	Activité anti-radicalaire par la méthode ABTS des extraits Aq .....	27
2.2.	Activité anti-radicalaire par la méthode DPPH des extraits Aq .....	28
2.3.	Activité anti-radicalaire par la méthode ABTS des extraits Ps.....	28
2.4.	Activité anti-radicalaire par la méthode DPPH des extraits Ps.....	29

Conclusion et perspectives .....	31
----------------------------------	----

### Références bibliographiques

### Annexes

# **Introduction**

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. La zone Saharienne Algérienne présente une flore spécifique, caractérisés par une importante diversité floristique, renfermant de nombreuses espèces endémiques hautement adaptées au climat de la zone (Ahmed, 2011).

Le Palmier dattier « *Phœnix dactylifera* L. », est l'une des plus vieilles espèces végétales cultivées, la mieux adaptée aux conditions climatiques difficiles de ces régions. Elle fournit la datté, très nutritive, et qui est considérée comme un aliment de base de nombreuses populations, et peut servir à l'élaboration de produits alimentaires de grande valeur énergétique et diététique, les recherches indiquent que ce fruit a une activité antioxydante importante en raison de la présence de composés hydrosolubles avec de puissants effets de piégeage des radicaux libres (Munier, 1973; Vayalil, 2002; Boudries *et al.*, 2007).

Aux doses faibles, les radicaux libres ou encore les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que la transduction du signal. La surproduction des ERO au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement (Meziti, 2009).

En effet l'accumulation de ces molécules dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides (Benhammu, 2011).

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme.

L'activité antioxydante fait actuellement l'objet de nombreuses études. De nos jours, la plupart des antioxydants sont synthétisés industriellement et sont suspectés d'être responsables des problèmes de santé (Yuan *et al.*, 2008; Zeng *et al.*, 2016).

La nécessité de les substituer par des antioxydants naturels, issus de plantes médicinales, est apparente. Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances ayant des activités biologiques et pharmacologiques très variées (Meziti, 2009)

Dans ce contexte nous avons choisi l'extrait aqueux des dattes qui se caractérise par une richesse en métabolites secondaire (polyphénols et terpènes...) et par les différentes activités

biologiques telles que l'activité antioxydante et l'activité antifongique selon (Shraideh *et al.*, 1998; Khaled, 2000; Sara, 2012).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels dont l'objectif consiste à évaluer l'activité antioxydante des extraits du fruit des dattes à partir de deux variétés sélectionnés (Ajwa et Tazerzait) en utilisant les tests ABTS et DPPH. Il contient notamment :

- Une première partie consacrée à une étude bibliographique résumant dans le premier chapitre la situation du secteur du palmier dattier mondial et algérien, suivi par la présentation des différents stades de maturation du fruit de datte et leur composition chimique globale, ainsi une appréciation sur les polysaccharides végétaux. Le deuxième chapitre englobe également des présentations sur les radicaux libres, le stress oxydatif, l'activité antioxydante et des méthodes d'évaluations *in vitro* de cette dernière ont été également présentées.
- La deuxième partie, correspondant à l'étude expérimentale, regroupe la description du matériel et des protocoles ainsi que les procédés d'extraction mis en application dans ce travail. Dans cette deuxième partie, les résultats obtenus sur l'activité antioxydante des deux variétés seront détaillés, suivis d'une discussion, une conclusion générale et des perspectives.

# **PARTIE I**

## **Synthèse Bibliographique**

# **Chapitre I**

**Le palmier dattier et les  
polysaccharides**

## 1. Généralité

Le palmier dattier est une plante typique des zones arides et semis arides. Le dattier, « *Phœnix dactylifera* L. ». ('Nakhla' en arabe), l'arbre de vie, est un palmier subtropical anciennement domestiqué. Il est largement cultivé pour ses multiples usages et ses services éco-systémiques, en particulier pour ses fruits comestibles, dont des milliers de variétés ont été sélectionnées, et pour sa capacité d'adaptation aux conditions des climats arides les plus sévères (Ishurd *et al.*, 2002; Zineb *et al.*, 2012; Fredo, 2013).

Elle fournit les dattes, très nutritives, consommées fraîches, sèches ou sous forme de produits dérivés (sirop, pâte, farine...) ; celles peu intéressantes d'un point de vue gustatif servent à l'alimentation du bétail (Gros-Balthazard *et al.*, 2013).

Le dattier a été nommé « *Phœnix dactylifera* » par Linné en 1753. « *Phœnix* » dérivé de « *Phoînix* » est le nom du dattier chez les Grecs antiques qui l'ont considéré comme l'arbre des Phéniciens (du grec « *phoen* » rouge sang, caractéristique de la couleur de leur peau) ou Phéniciens. « *Dactylifera* » vient du latin « *dactylus* » dérivant du Grec « *daktylos* » signifiant doigt en raison de la forme de fruit du dattier (Fredo, 2013).

Les données indiquent également que la production mondiale de dattes est passée d'environ 4,60 millions de tonnes en 1994 à 7.6 millions de tonnes en 2014 et que les attentes sont que leur culture continuera d'augmenter (FAOStat, 2014).

Certaines variétés importantes des dattes cultivées à travers le monde sont Ajwa, Deglet Noor, Dayri, Ftimi, Itéema, Jabri, Khlas, Lulu, Medjool, Sagay et Zahidi (Baliga *et al.*, 2011).

## 2. Position systématique

Les palmiers dattiers sont des monocotylédones, dioïques (Baliga *et al.*, 2011), dont la position systématique est la suivante :

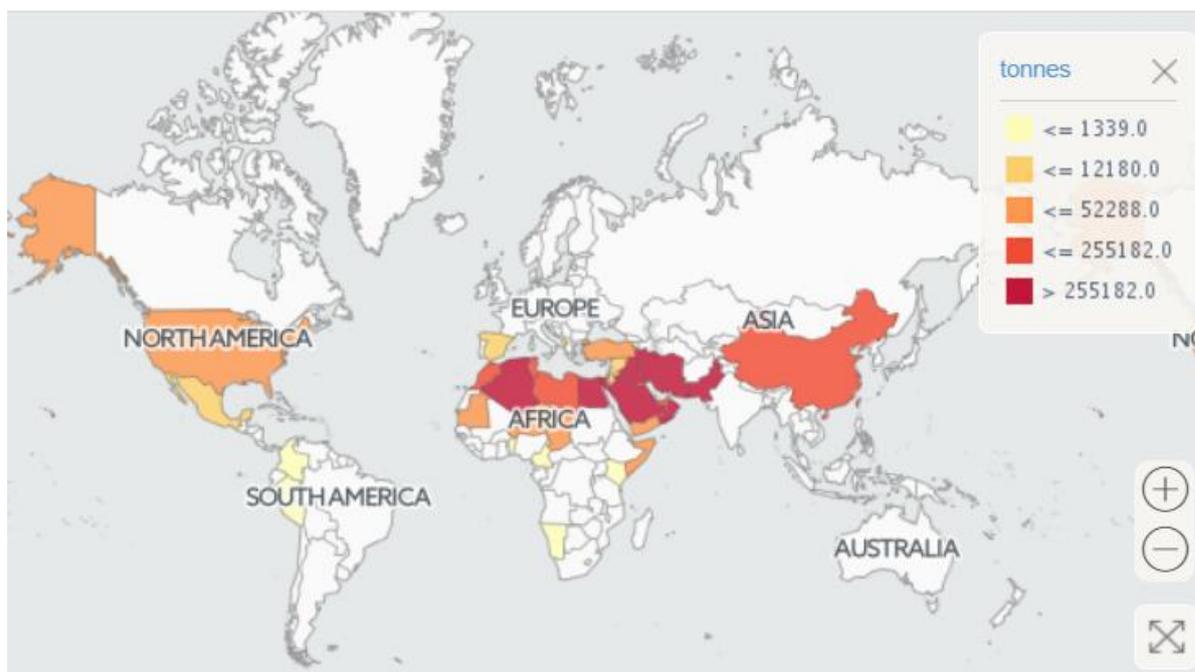
- Groupe : Spadiciflores ;
- Embranchement : Angiospermes ;
- Classe : Monocotylédones ;
- Ordre : Palmale ;
- Familles : Palmacées ;
- Sous famille : Coryfoïdées ;
- Tribu : Phœnicées ;
- Genre : *Phœnix* ;
- Espèce : *Dactylifera* L. (Djerbi, 1994).

### 3. Répartition géographique en Algérie et dans le monde

#### 3.1. Dans le monde

La production phœnicicole mondiale est de l'ordre de 7 600 315 tonnes de datte. Actuellement, environ 100 millions de palmiers dattiers sont cultivés dans le monde (FAOStat, 2014; Ghnimi *et al.*, 2017).

Ils sont répartis dans l'ensemble du Moyen-Orient, de l'Afrique du Nord et du Sud-Sahel, des régions d'Afrique de l'Est et d'Afrique du Sud, Sud-ouest des États-Unis, Amérique centrale et du Sud et même le Sud européen (Espagne et Italie) (Ishurd *et al.*, 2002). (**Tab. 1** et **Fig. 1**).



**Figure 1** : Répartition géographique des dattes dans le monde (FAOStat, 2014).

**Tableau 1** : Les dix pays les plus producteurs des dattes au monde (FAOStat, 2014) .

PAYS	Production en tonnes	% de production Internationale
Egypte	1 465 030	19.3
Iran	1 156 996	15.2
Algérie	934 377	12.3
Arabie saoudite	766 800	10.1
Iraq	662 447	8.7
Pakistan	537 204	7.1
Soudan	439 000	5.8
Oman	328 392	4.3
Émirats arabes unis	255 182	3.3
Tunisie	199 000	2.6
Autres	855 887	11.3
Total	7 600 315	100

### 3.2. En Algérie

La phoeniciculture algérienne occupe une superficie totale de 165 378 ha. La consommation moyenne de dattes dans les zones de production serait d'environ entre 5 à 30 Kg/an/hab (FAOStat, 2007, 2014).

En général, les palmeraies algériennes sont localisées au Nord-Est du Sahara au niveau des oasis. Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement (**Tab. 2**). La palmeraie algérienne héberge un matériel génétique très riche et diversifié avec 940 cultivar recensés (Ahmed, 2011; Farah, 2011).

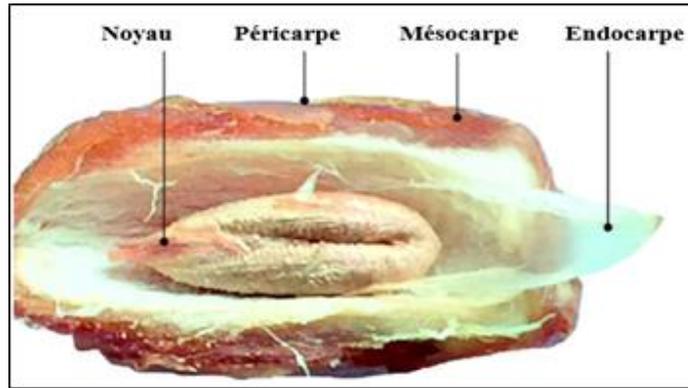
**Tableau 2 :** Les dix-sept wilayas productrices des dattes en Algérie (Blama et *al.*, 2014).

Wilaya	Nombre de palmier dattier	Production en tonnes
BISKRA	4 213 332	291 718
EL OUED	3 729 820	202 287
ADRAR	3 704 782	86 508
OUARGLA	2 506 620	113 130
BECHAR	1 590 722	23 924
GHARDAIA	1 214 110	47 000
TAMANRASSET	688 882	10 859
ILIZI	125 700	1 558
KHENCHELA	122 042	5 890
EL BAYADH	77 990	681
TEBESSA	61 400	1 800
NAAMA	50 600	880
TINDOUF	45 206	607
LAGHOUAT	32 595	1 086
BATNA	28 556	1 279
DJELFA	9 283	149
M'SILA	/	/

#### 4. Le fruit du palmier dattier (la datte)

##### 4.1. Définition

Le fruit du palmier dattier est une baie appelée « Datte, Tmar en arabe », contenant une seule graine « noyau ». Elle est de forme généralement allongée, oblongue ou arrondie, ovoïde, parfois sphérique, elle est composée d'un noyau, ayant une consistance dure, entouré de chair. La partie comestible de la datte, dite chair ou pulpe, est constituée de trois enveloppes (Péricarpe, mésocarpe et endocarpe) (Rima, 2013) (**Fig. 2**).



**Figure 2 :** Anatomie de la datte et noyau du palmier dattier (Ghnimi et *al.*, 2017).

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Leur couleur va du blanc jaunâtre au noir en passant par les couleurs ambre, rouges, brunes plus ou moins foncées. (Rima, 2013) (**Photo 1**).



**Photo 1 :** Deux variétés de datte (à droite Bentkbala, à gauche Taneslit) (originale, 2017)

#### 4.2. Les étapes de fructification du palmier dattier

Le palmier dattier fructifie une fois par an et passe par cinq étapes de développement pour atteindre la maturité totale (après fécondation, l'ovule évolue pour donner un fruit de couleur verte de taille d'un pois puis d'un fruit de raisin jusqu'à la taille normale de la datte). Le processus est long et prend environ sept mois. À maturité, les fruits peuvent être de couleur jaune à brun rougeâtre. Les dattes sont trouvées en grappes et chaque groupe peut peser environ 10 kg. Une palme entièrement productive peut supporter jusqu'à dix grappes et produire environ 100 kg de fruits. En effet, le rendement moyen de la production de dattes varie entre 18 et 50 kg de dattes par arbre (Zaid, 1999; Bendahou *et al.*, 2007; Baliga *et al.*, 2011; Rima, 2013).

La douceur et la texture de la datté sont étroitement liées au stade de maturité. Pendant la croissance et le développement de la datté, plusieurs changements externes et internes de la couleur et de la composition chimique sont observés (Zaid, 1999; Baliga *et al.*, 2011).

Une terminologie spécifique à chaque région permet de suivre l'évolution de la datté, chaque stade de maturité correspond à une appellation particulière (Khalida, 2007). (**Tab. 3**)

**Tableau 3** : Stade de maturation et principales appellations.

Appellation internationale <sup>(1)</sup>	Stade I	Stade II	Stade III	Stade IV	Stade V
	Khalal	Blah	Bser	Rotab	Tmar ou Tamr
Autre appellation <sup>(1)</sup>	Loulou (Sahara algérienne) ; Hababouk (Irak) ; Sadi (KSA) ; Barir (Ghardaïa mozabite et arabe).	Kh'lal (Sahara algérienne) ; Khalal touche (Irak) ; Blah (Ghardaïa arabe) ; Taghiwt (Ghardaïa mozabite)	Safar (Sud de Libye) ; fada (Yamen) ; Bser (Ghardaïa arabe) ; Adjerdom (Ghardaïa mozabite)	Mretba ou Martouba (Sahara algérienne) ; Tamra (Irak) ; Amlow (Ghardaïa mozabite)	Blah (Egypte) ; Abloh (Maroc, marrakeche) ; Tmar (Ghardaïa arabe) ; Ayniw (Ghardaïa mozabite)
Durée après pollinisation <sup>(1)</sup>	4–5 semaines	4-14 semaines	3–5 semaines	2–4 semaines	
Aspect de la datté <sup>(2)</sup>					

(1) : (Khalida, 2007) ;

(2) : (Baliga *et al.*, 2011).

### 4.3. Composition chimique

Les dattes sont considérées comme des aliments riches en énergie en raison de leur teneur en sucre (70-75%), en protéines (1,9-2,8%) et en lipides (0,5-2,5%) du poids sec. Ils contiennent également des vitamines (1,5 à 5 mg / 100 g) et des quantités importantes de certains minéraux comme le fer et le potassium (1,5 à 2,5%) (Khaled, 2000). (**Tab. 4, 5, 6, 7 et 8**).

L'analyse phytochimique de la datte révèle qu'elle est riche en métabolites secondaires tels les composés phénoliques, les stérols, les caroténoïdes, les anthocyanines, les procyanidines et les flavonoïdes. Le rapport et les concentrations de ces constituants dépendent du type de fruit, du stade de la maturation, de l'emplacement et des conditions du sol. Ces produits contribuent également aux propriétés nutritionnelles et organoleptiques des fruits (Baliga *et al.*, 2011).

**Tableau 4 :** Composition des différents éléments nutritifs de la datte (Baliga *et al.*, 2011).

Composition	Valeur minimale	Valeur maximale
Humidité (g/100 g)	7.2	50.4
Lipide (g/100 g)	0.1	1.4
Cendre (g/100 g)	1.0	1.9
Protéine (g/100 g)	1.1	2.6
Les glucides (g/100 g)	52.6	88.6
Fibre (g/100 g)		
Soluble	0.4	1.3
Insoluble	3.03	7.4
Total	3.57	10.9

**Tableau 5 :** Les vitamines contenues dans la datte (Baliga *et al.*, 2011).

Vitamine ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	Valeur minimale	Valeur maximale
A (Rétinol)	3.0	44.7
B1 (Thiamine)	50	120
B2 (Riboflavine)	60	160
B3 (Niacine)	1 274	1610
B6 (Pyridoxal)	165	249
B9 (Folate)	39	65
C (acide Ascorbique)	400	16

**Tableau 6 :** Les métabolites secondaires contenues dans la datte (Baliga et *al.*, 2011)

Métabolites	Valeur minimale	Valeur maximale
$\alpha$ -Caroténoïdes ( $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ )	3.0	3.0
$\beta$ -Caroténoïdes ( $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ )	2.5	146
Zeaxanthine ( $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ )	33.0	33.0
Composés phénoliques (mg/100 g)	3.91	661
$\beta$ -Zeaxanthine ( $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ )	9.0	9.0
Lutein ( $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ )	28.0	541
Neoxanthine ( $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ )	184	381
Anthocyanines (mg/100 g)	0.2	1.5

**Tableau 7 :** Sels et minéraux (Baliga et *al.*, 2011).

Minéraux (mg/100 g)	Valeur minimale	Valeur maximale
Magnésium (Mg)	31.0	150
Sodium (Na)	1.00	261
Calcium (Ca)	5.00	206
Phosphore (P)	35.0	74
Potassium (K)	345.0	1287
Manganèse (Mn)	0.01	0.4
Fer (Fe)	0.10	1.5
Zinc (Zn)	0.02	0.6
Cuivre (Cu)	0.01	0.8
Sélénium (Se)	0.24	0.4

**Tableau 8 :** Principaux Acides aminés (Baliga *et al.*, 2011).

Acides aminés (mg/100 g)	Valeur minimale	Valeur maximale
Alanine	30	133
Arginine	34	148
Acide Aspartique	59	309
Cystéine	13	67
acide Glutamique	100	382
Glycine	42	268
Leucine	41	242
Lysine	42	154
Phénylalanine	25	67
Proline	36	148
Serine	29	128
Thréonine	23	95
Tyrosine	15	156

Compte tenu de l'importance alimentaire des fruits de la datte, de nombreuses études ont été menées sur la caractérisation de sa composition chimique, en particulier les polysaccharides (Bendahou *et al.*, 2007).

## 5. Les polysaccharides

Durant les deux dernières décennies, les polysaccharides naturels dérivés de végétaux supérieurs, d'animaux, de champignons, d'algues, etc., démontrent qu'ils ont des activités biologiques de grande envergure, y compris l'activité anti-tumorale, immuno-modulatrice, anti-inflammatoire et antioxydante. En raison de leur sécurité et des propriétés non toxiques, certains de ces polysaccharides ont été appliqués avec succès comme antioxydants et immuno-modulateurs. En conséquence de leur application potentielle dans les domaines de l'ingénierie pharmaceutique, de l'ingénierie alimentaire, de l'agriculture et d'autres, l'intérêt pour poursuivre l'isolement, la caractérisation et l'activité biologique de divers polysaccharides à partir de produits naturel est croissant (Wang *et al.*, 2017).

La structure et les mécanismes des effets pharmaceutiques des polysaccharides sur les maladies ont été largement étudiés, et des polysaccharides naturels avec différents effets curatifs ont été testés et même appliqués en thérapies (Yuan *et al.*, 2008; Zakaria, 2014; Fan *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017)

### 5.1. Définition

Les polysaccharides sont des polymères de glucides qui résultent du mécanisme photosynthétique. Ils sont formés par la condensation répétitive d'un ou plusieurs oses par liaison glycosidique dépassant 10 unités pour atteindre plusieurs centaines ou milliers (Robyt, 1998; Gaël, 2005).

Ils ont attiré une attention considérable et ont été considérés comme les matériaux les plus prometteurs ces dernières années en raison de leurs propriétés (ces polymères hydrosolubles établissent des interactions spécifiques avec l'eau et peuvent épaissir, stabiliser ou gélifier une solution) (Zakaria, 2014; Xu *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2017).

### 5.2. Classification des polysaccharides

Il existe dans la nature de nombreuses variétés de polysaccharides répertoriées qui peuvent être classés sur la base de :

#### 5.2.1. Leur composition en monomères

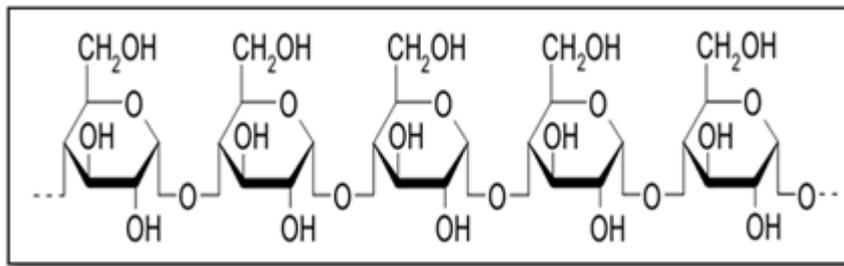
- a) **Homo-polysaccharides ;**
- b) **Hétéro-polysaccharides.**

#### 5.2.2. Leur degré de ramification

- a) **Linéaires : exemple**

##### **L'amylose**

L'amylose, de longue chaîne non ramifiée, est constituée de résidus glucose unis exclusivement par des liaisons  $\alpha$  (1  $\rightarrow$ 4) (**Fig. 3**), ayant une masse moléculaire comprise entre  $10^4$  et  $10^5$  Da (Weinman and Méhul, 2004; Gaël, 2005).

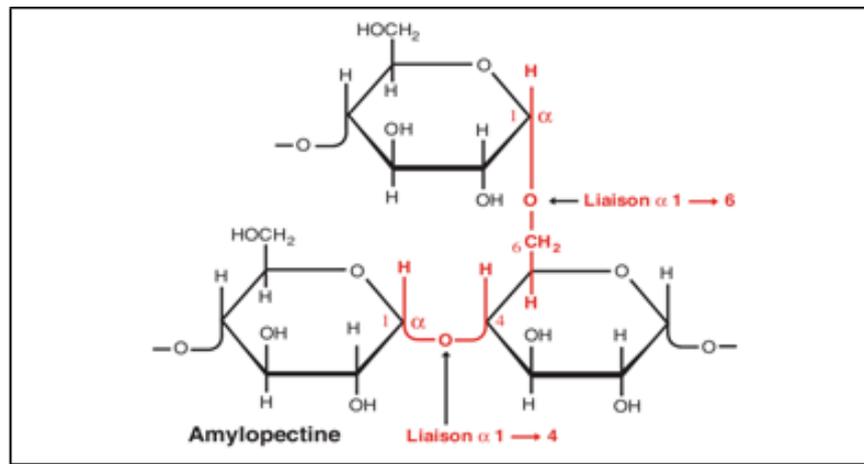


**Figure 3 :** Structure linéaire de la molécule d'amylose (Gaël, 2005).

## b) Ramifiés : exemple

### L'amylopectine

C'est l'un des plus gros polysaccharides connus et est formé de chaînes glucidiques liées en  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) ramifiées en  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) (**Fig. 4**) toutes les 12 unités glucidiques environ. La masse moléculaire de ce polymère est élevée ( $10^7$  à  $10^8$  Da) (Gaël, 2005).



**Figure 4 :** Structure ramifié de molécule de l'amylopectine (Weinman and Méhul, 2004)

### 5.2.3. Leur fonction biologique

#### a) Polysaccharides de réserve

Que l'on retrouve dans les corps d'inclusion et qui servent de réserves métaboliques aux cellules, Exemple

#### L'amidon

Composé exclusivement de D-glucose et il sert pour stocker l'énergie chimique. C'est un haut polymère, sa solubilité dans l'eau change avec la température, insoluble dans l'eau froide (Robyt, 1998; Stephen *et al.*, 2006).

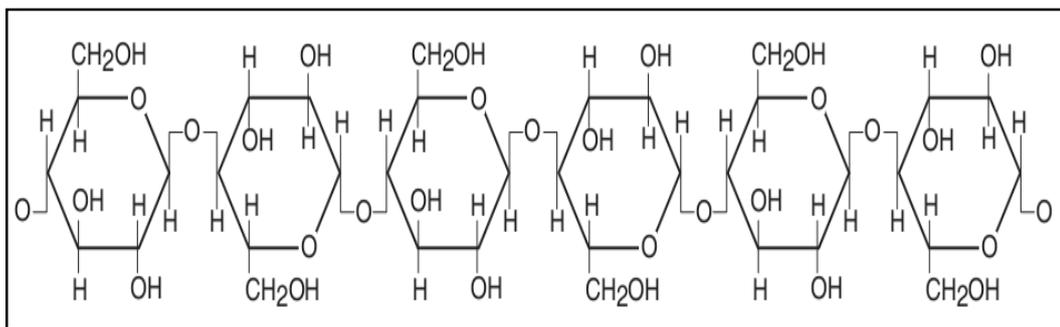
Chimiquement, L'amidon est constitué de l'amylose qui représente (15 à 30%) de l'amidon et l'amylopectine qui représente 70 à 85% de l'amidon (Isabelle and Mireille, 2008).

### b) Polysaccharides de structure :

Qui participent à l'architecture des parois cellulaires (paroi végétale) (Bruneton, 2009)

#### La cellulose

C'est le polysaccharide de soutien le plus répandus, puisque la cellulose représente l'essentiel des parois des cellules végétales, le bois en est la source la plus importante. C'est un polymère linéaire non ramifié, de poids moléculaire élevé (de  $5 \times 10^4$  à  $2.5 \times 10^6$  Da), des unités de D-glucopyranose liées  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4) (**Fig. 5**) (Robyt, 1998; Weinman and Méhul, 2004; Isabelle and Mireille, 2008; Bruneton, 2009).



**Figure 5 :** Structure linéaire de la molécule de cellulose (Arneson et *al.*, 2007).

# **Chapitre II**

**Le stress oxydatif**

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Généralement, les réactions d'oxydoréduction font intervenir des intermédiaires radicalaires. Ces réactions sont présentes dans le milieu vivant et gouvernent des processus aussi importants que la reproduction des espèces, la mutagenèse, la défense contre les maladies. Ces réactions interviennent dans le vieillissement et dans certaines pathologies (Favier, 2003; Benaïssa, 2012; Fan *et al.*, 2017).

## 1. Les radicaux libres

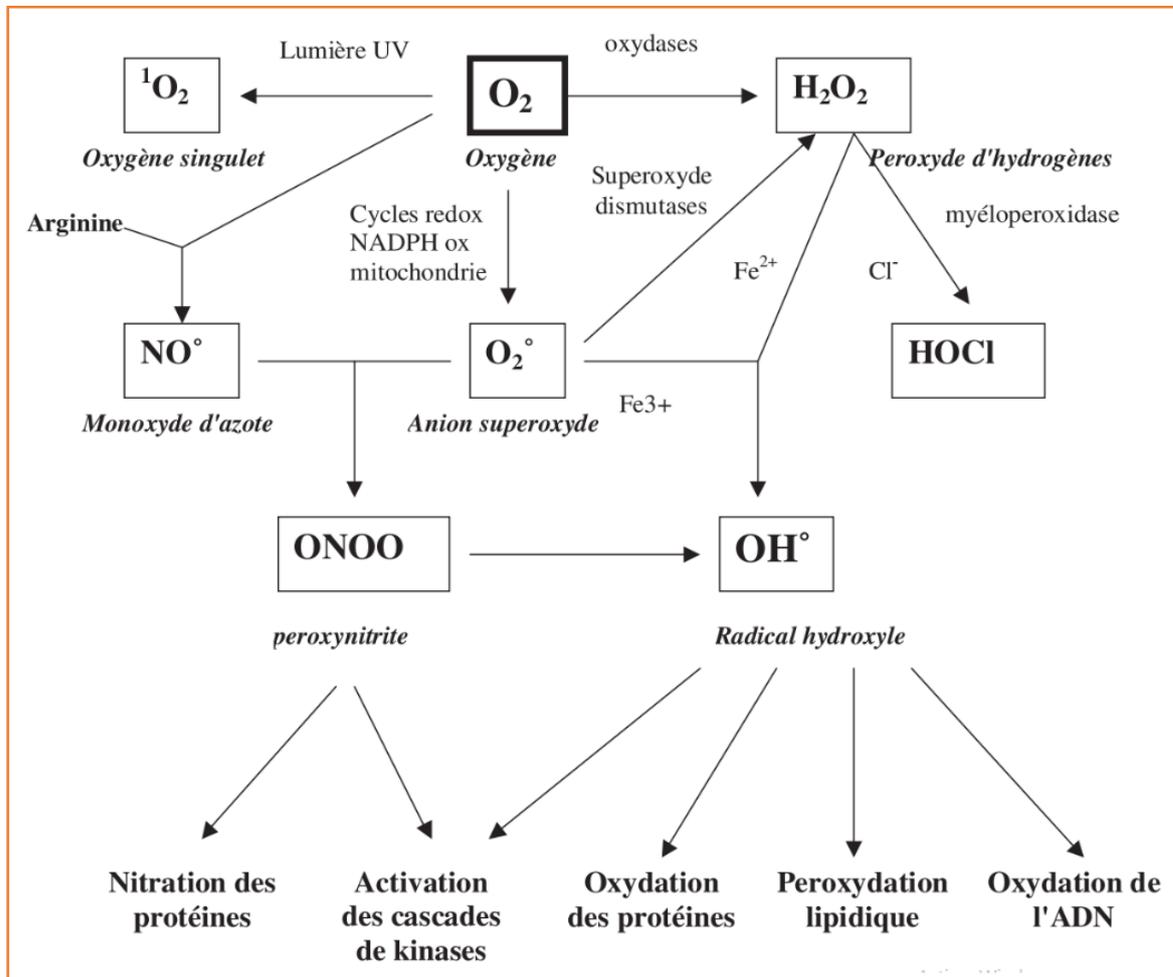
Les radicaux libres sont produits dans le cadre de processus métaboliques normaux. Ce sont des espèces chimiques extrêmement réactives, hautement instables et potentiellement dangereuses. Par définition, un radical libre est un composé possédant un ou plusieurs électrons non appariés, dont sa durée de vie est très courte (de l'ordre d'une micro à nano seconde) (Sanchez-Moreno, 2002; Song *et al.*, 2010; Benaïssa, 2012).

Les radicaux libres réagissent rapidement avec d'autres composés, essayant de capturer l'électron nécessaire pour obtenir une stabilité. Généralement, ils attaquent la molécule stable la plus proche pour attraper son électron. Lorsque la molécule attaquée perd son électron, elle devient un radical libre lui-même, en commençant une réaction en chaîne. Une fois le processus démarré, il se cascade, ce qui entraîne enfin la perturbation d'une cellule vivante (Sanchez-Moreno, 2002; Zeng *et al.*, 2016).

Certains radicaux libres surviennent normalement pendant le métabolisme. En cas d'agression, les cellules du système immunitaire du corps les créent pour neutraliser les virus et les bactéries (source endogène). Cependant, les facteurs environnementaux tels que la pollution, les rayonnements, la fumée de cigarette et les herbicides peuvent également engendrer des radicaux libres (source exogène). Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il faut distinguer un ensemble restreint de composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène (tels l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  et le radical hydroxyle  $HO^{\cdot}$ ) ou de l'azote (tel le monoxyde d'azote  $NO^{\cdot}$ ). D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), les oxydants chlorés

(HOCl) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003; Fan *et al.*, 2017).

Selon Favier (2003) ; Menon and Indu (2010) ; Rafael *et al.* (2011) et Jaberian *et al.* (2013), l'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS pour les anglo-saxons) ou espèces réactives de l'azote (RNS). (**Fig. 6**).



**Figure 6 :** Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

## 2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui retardent ou stoppent le processus d'oxydation. Dans des conditions physiologiques, l'état redox cellulaire est étroitement contrôlé par des systèmes antioxydants enzymatiques (telles que la superoxyde dismutase, la catalase et les peroxydes de glutathion), et non enzymatique qui sont des piègeurs chimiques endogènes (Glutathion, Acide urique...) ou exogènes (Vitamine E, Vitamine C...) (Arouma, 1996; Song *et al.*, 2010; Rafael *et al.*, 2011; Benaissa, 2012).

Les antioxydants non enzymatique agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, en les transformant en molécules ou ions stables, donc mettant fin aux attaques directes des ROS. La molécule piègeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ils agissent comme des boueurs (scavengers en anglais), ce qui contribue à prévenir les dommages cellulaires qui pourraient entraîner des dégâts et des maladies tissulaires. Par contre, les antioxydants de nature enzymatique visent à détruire les superoxydes et peroxydes (Favier, 2003; Menon and Indu, 2010).

### 3. Méthodes d'évaluations *in vitro* de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante est évaluée soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres (Marc *et al.*, 2004).

Le plus souvent, il faut combiner les résultats des différents tests pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (Trizitis and Bartroz, 2010).

### 4. Les tests de Piégeage des radicaux spécifiques

#### 4.1. Piégeage du radical superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ )

Les méthodes analytiques pour la détermination de la capacité de piégeage d' $O_2^{\cdot-}$  utilisent le système xanthine oxydase / hypoxanthine (ou xanthine) à pH 7,4 pour générer un radical anion superoxyde. L' $O_2^{\cdot-}$  peut réduire le nitrobleu tetrazolium (NBT) de couleur jaune en formazan, de couleur pourpre, qui est surveillé par spectrophotométrie à 560 nm. Les composés antioxydants sont en compétition avec NBT pour  $O_2^{\cdot-}$  et diminuent le taux de réaction (Sanchez-Moreno, 2002).

#### 4.2. Piégeage du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ scavenging activity)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV.

Comme la concentration de  $H_2O_2$  diminue par les composés piégeurs, la valeur d'absorbance de cette dernière à 230 nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, ce qui nécessite la réalisation d'une mesure du "blanc" (Sanchez-Moreno, 2002; Magalhaes *et al.*, 2008).

### 4.3. Piégeage du radical hydroxyle (HO•)

Plusieurs méthodes *in vitro* pour la détermination de la capacité de piégeage du radical HO• sont disponibles, principalement basées sur le système « acide ascorbique + Fe<sup>3+</sup> + EDTA + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> » pour générer un flux constant de radicaux HO•. Ces radicaux attaquent le sucre 2-désoxy-D-ribose (utilisé comme cible), ce qui le dégrade en une série de fragments, dont certains réagissent à l'acide thiobarbiturique à faible pH pour donner un chromogène rose. (Arouma, 1994, 1996; Magalhaes *et al.*, 2008)

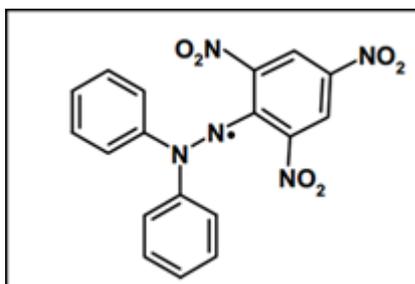
Si un piègeur HO• est ajouté au mélange réactionnel, il sera en concurrence avec le désoxyribose pour les radicaux HO•, ce qui inhibera la dégradation des espèces cibles. Il convient de souligner que la ou les substances sous test peuvent interférer avec le système de génération des radicaux hydroxyles. Ainsi, les composés peuvent inhiber la génération du radical HO• en réagissant directement avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou en chélatant l'ion métallique. De cette manière, la performance du dosage de désoxyribose sans EDTA permet d'identifier des composés qui chélatent des ions métalliques (Magalhaes *et al.*, 2008).

## 5. Testes de Piégeage des radicaux libres non biologiques

### 5.1. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable. Il est réduit lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène et perd la couleur violet foncé caractéristique ( $\lambda$  515-517 nm). Le radical DPPH est très populaire pour l'étude des antioxydants naturels (Sanchez-Moreno, 2002; Trizitis and Bartroz, 2010).

Généralement, les résultats sont exprimées comme la concentration efficace (EC<sub>50</sub>), c'est-à-dire la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer de 50% la concentration initiale de DPPH• (Fig. 7) (Magalhaes *et al.*, 2008; Trizitis and Bartroz, 2010; Shekhar and Anju, 2014).

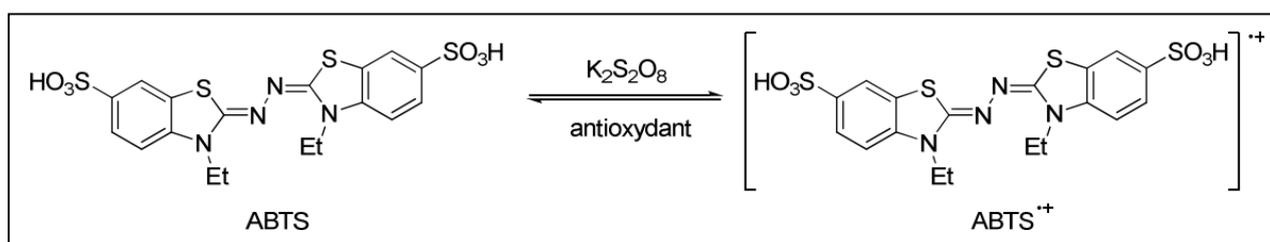


**Figure 7** : Structure du radical stable DPPH• (Trizitis and Bartroz, 2010).

## 5.2. Piégeage du radical 2,2'-azynobis-[3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate] (ABTS) ou Trolox équivalent antioxidant capacity (TEAC)

Dans la méthode TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical  $ABTS^{•+}$ , obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox® (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E (Marc *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2011).

L'obtention du radical cation  $ABTS^{•+}$  résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation en présence de  $H_2O_2$ , ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical  $ABTS^{•+}$ , en contact avec un donneur de  $H^•$  conduit à l' $ABTS^+$  (**Fig. 8**) et à la décoloration de la solution ( $\lambda_{max}$  734 nm) (Marc *et al.*, 2004).



**Figure 8** : Formation, et piégeage du radical  $ABTS^{•+}$  par un antioxydant (NADAL, 2010).

## **PARTIE II**

### **Etude expérimentale**

# **Chapitre III**

## **Matériels et méthodes**

Le présent travail s'oriente sur l'étude des polysaccharides potentiellement actifs contenue dans la datte. L'objectif recherché, est une contribution à élargir le spectre des composés biologiques actifs, pouvant devenir des substituts de drogues synthétique. L'étude porte sur l'extraction des polysaccharides et l'étude de leur activité antioxydante via des tests colorimétriques.

Ce travail expérimental a été effectué au sein du Laboratoire de Biochimie Analytique et Biologie 2 de l'Université de Ghardaïa (Algérie).

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal de l'étude est composé de deux variétés des dattes : Ajwa et Tazerzait, au stade Tmar. Les dattes, fraîchement collectés, sont sélectionnées et stockées dans les mêmes conditions pour l'utilisation antérieure.

- Ajwa (**Photo 2**) Les fruits Ajwa sont doux et secs. Elle est cultivée exclusivement dans la région d'Al Madinah Al Munawara à l'ouest de l'Arabie Saoudite. La forme du fruit est ovale allongée et de taille de 2 à 3 cm. La couleur est rouge foncé au stade rotab et se transforme en brun foncé au stade tmar avec des rides (Khalid *et al.*, 2017).
- Tazerzait (**Photo 3**). Les fruits Tazerzait sont semi sèche. Elle est cultivée dans la région du Sahara centrale, c'est une datte de bonnes qualités gustatives. La forme du fruit est allongée et de taille de 3 à 4 cm. La couleur est jaune-orangé au stade rotab et se transforme en brun au stade tmar (Toutain, 1967).



**Photo 2** : Date et noyau de la variété Ajwa (originale, 2017)



**Photo 3** : Date et noyau de la variété Tazerzait (originale, 2017)

## 1.2. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans cette présente étude sont les solvants organiques éthanol et méthanol, ainsi le réactif de l'acide 2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique] (ABTS) qui, en mélangeant une solution de persulfate de potassium et une solution de ce dernier, génère le radical cation ABTS<sup>•+</sup> dont il est capable de réagir avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron, et est utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits (NADAL, 2010; Li *et al.*, 2011).

Le deuxième réactif test est représenté par le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est un radical libre stable couramment utilisé pour évaluer la capacité des composés à agir comme agents éliminateurs de radicaux libres ou donneurs d'hydrogène et à mesurer l'activité antioxydante des extraits (Molyneux, 2004; Pyrzynska and Pekal, 2013; Shekhar and Anju, 2014).

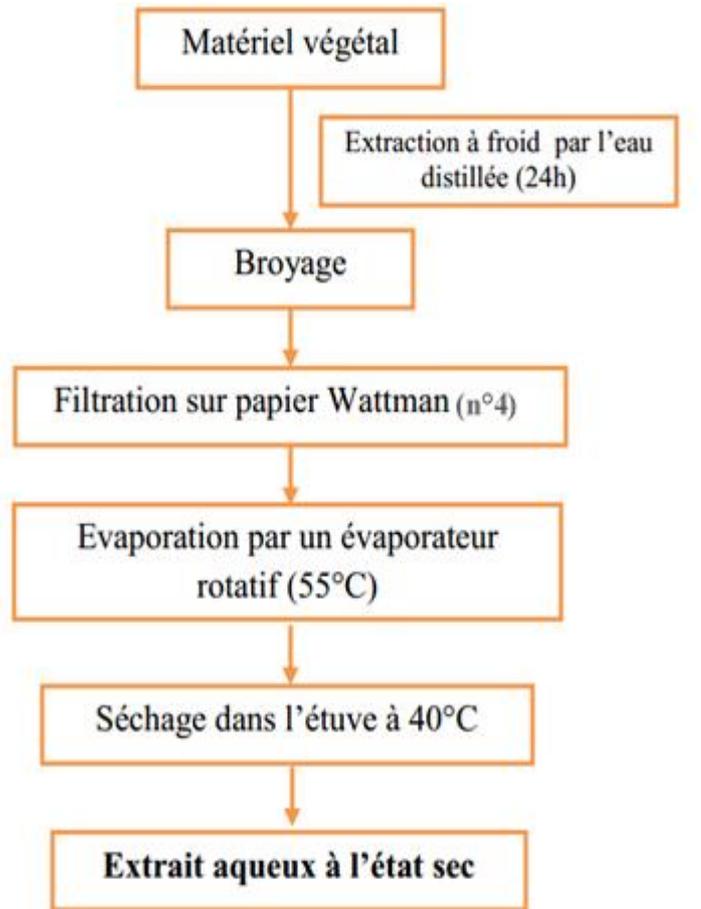
Deux témoins positifs sont utilisés, il s'agit de 'Butylhydroxytoluène' (BHT) ou (2,6-ditertiobutyl 4-méthyl phénol), un solide blanc, soluble dans les graisses et insoluble dans l'eau. C'est un antioxydant de synthèse très efficace, avec la vitamine C (Acide ascorbique), qui est une vitamine hydrosoluble naturelle et un agent réducteur et antioxydant puissant (Helme *et al.*, 2006; HACIŞEVKĐ, 2009).

## 2. Méthodes d'extraction

### 2.1. Extraction aqueuse par macération (Aq) :

Une quantité de vingt grammes (20g) des dattes coupées en petits morceaux sont macérés dans 100 ml d'eau distillée à température ambiante ; dans un flacon protégé par un papier film.

Après 24h, le mélange est broyé et filtré en utilisant papier filtre N° 4. Ensuite, l'extrait obtenu est concentré en utilisant un rota-vapeur, à 55 °C jusqu'à avoir un volume de 50 ml, puis ce volume est divisé sur des boîte de pétri en verre et placé dans une étuve propre à 40 °C pour obtenir un extrait aqueux à l'état sec (Shraideh *et al.*, 1998; Khaled, 2000; Ameer and Allaith, 2008; Belmir *et al.*, 2015).

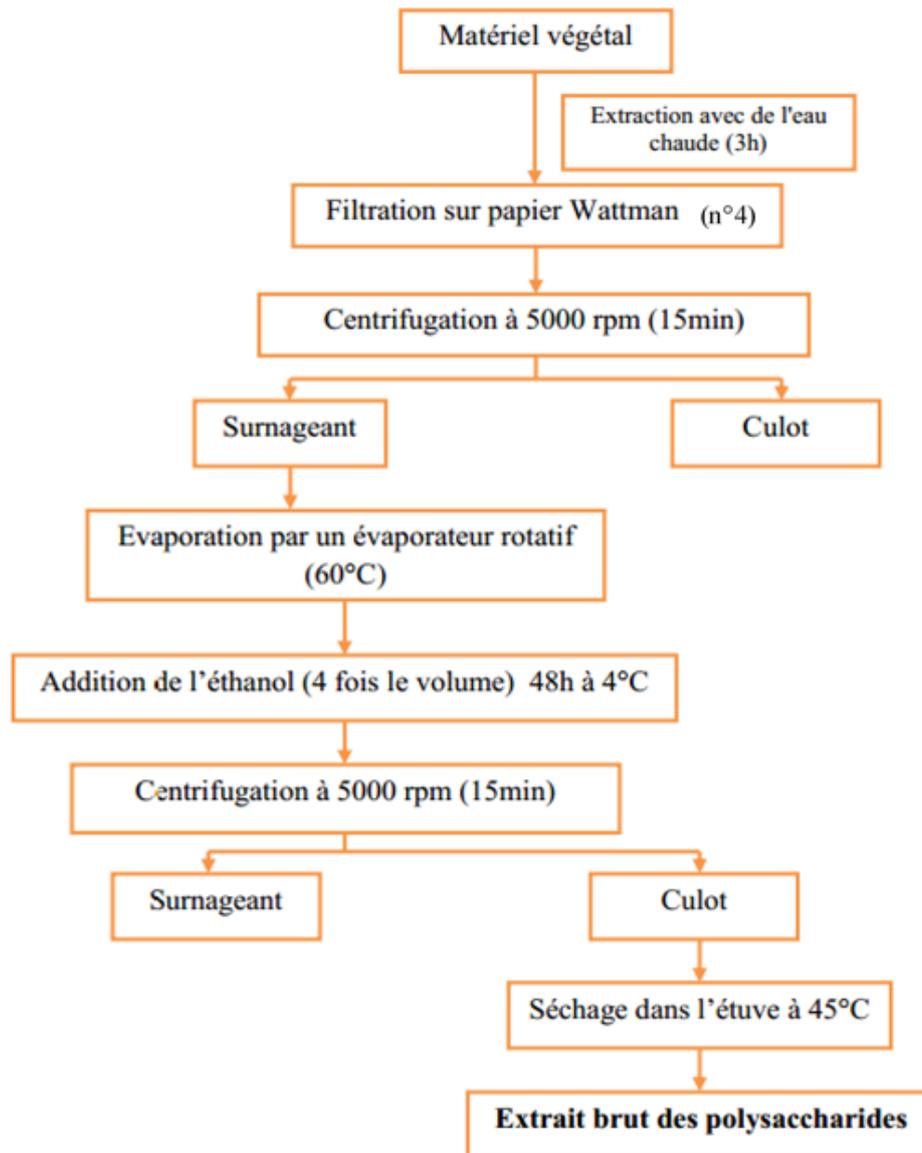


**Figure 9 :** Différentes étapes de l'extraction aqueuse par macération à partir des dattes (Shraideh *et al.*, 1998; Khaled, 2000; Ameer and Allaith, 2008; Belmir *et al.*, 2015)

## 2.2. Extraction des polysaccharides (Ps)

La plupart des polysaccharides bioactifs sont de nature polaire, donc les solvants polaires, tels que l'eau chaude et la solution aqueuse alcaline, sont utilisés pour extraire les polysaccharides. L'extraction avec de l'eau chaude, comme méthode classique, a été largement appliquée dans l'industrie alimentaire et médicale pour la préparation des polysaccharides (Chen *et al.*, 2016a).

Le processus passe par plusieurs étapes, d'abord cinquante grammes (50 g) des dattes coupées en petits morceaux sont introduites dans 1000 ml d'eau distillée bouillante dans un extracteur à reflux, pendant 3 heures. Ensuite l'extrait est filtré (en utilisant papier filtre N° 4) puis centrifugé à 5000 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60 °C (jusqu'à l'obtention de moins de 100 ml). Ce surnageant, ainsi concentré, est traité avec l'éthanol (4 fois le volume) pendant 48 heures à 4 °C. Après une centrifugation à 5000 rpm pendant 15 minutes, le précipité est récupéré et séché à 45 °C (dans une étuve propre) afin d'obtenir l'extrait brut des polysaccharides (Ishurd *et al.*, 2002).



**Figure 10 :** Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosoluble des dattes (Ishurd et *al.*, 2002).

### 2.3. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction ( $R$  en %) est le rapport entre le poids de l'extrait sec obtenu ( $E$ ) et le poids de la matière végétale sèche ( $M$ ). Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé selon la formule :  $R (\%) = (E/M) \times 100$  (Abdelaziz, 2013).

### 3. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

DPPH<sup>\*</sup> et ABTS<sup>\*</sup>, sous la forme radicale, ont une absorbance caractéristique à 515 et 734 nm respectivement, qui disparaît après la réduction par un composé anti radical (AH). La réduction de DPPH et d'ABTS peut ainsi être surveillée en mesurant la diminution de l'absorbance à 515 et 734 nm. Ces deux méthodes sont simples, précises et peu coûteuses (Shalaby and Shanab, 2012).

### 3.1. Activité anti radicalaire par la méthode ABTS

Le protocole de piégeage du radical ABTS a été effectué en suivant la méthode de Wang *et al.* (2014). Le radical cation (ABTS<sup>•+</sup>) est généré en mélangeant une solution d'ABTS (7 mM) avec une solution aqueuse de persulfate de potassium (2.45 mM) et en laissant le mélange se maintenir dans l'obscurité à température ambiante pendant 12-16 heures avant utilisation.

Au moment de l'utilisation, la solution ABTS<sup>•+</sup> est diluée à une absorbance de 0.70 (± 0.02) à 734 nm et laissée pendant 30 min. Ensuite, 0.2 ml de l'extrait, à des concentrations différentes (0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 mg / ml) **Annexe 1**, est ajouté à 2.0 ml de la solution ABTS<sup>•+</sup>. Après avoir réagir pendant 20 minutes à température ambiante, l'absorbance est immédiatement mesurée à 734 nm. BHT et acide ascorbique ont été utilisés comme témoin positif avec les mêmes concentrations que les extraits.

Le pourcentage (%) de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> s'exprime par l'équation :

$$\text{Piégeage d'ABTS (\%)} = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

Où :

- $A_{\text{blanc}}$  est l'absorbance du blanc control (sans l'échantillon) ;
- $A_{\text{échantillon}}$  est l'absorbance des différents échantillons testés.

### 3.2. Activité anti radicalaire par la méthode DPPH

Le protocole de piégeage du radical DPPH a été effectué en suivant la méthode d'El-Haci *et al.* (2013). Un volume de 50 µl de l'extrait, à des concentrations différentes (0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 mg / ml) **Annexe 1**, pour les extraits bruts de polysaccharides, et (100, 200, 300, 400, 500 et 600 mg/ml) **Annexe 2** pour les extraits aqueux, est mélangé avec 1.950 ml de la solution DPPH (6 x 10<sup>-5</sup> M, dans l'éthanol). Après avoir réagir pendant 30 minutes à température ambiante, l'absorbance est immédiatement mesurée à 515 nm. BHT et acide ascorbique ont été utilisés comme témoin positif avec les mêmes concentrations que les extraits.

Le pourcentage (%) de piégeage du radical DPPH s'exprime par l'équation :

$$\text{Piégeage de DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

Où :

- $A_{\text{blanc}}$  est l'absorbance du blanc control (sans l'échantillon) ;
- $A_{\text{échantillon}}$  est l'absorbance des différents échantillons testés.

La valeur  $EC_{50}$  (mg/ml) est la concentration à laquelle cette activité de piégeage est de 50%.

#### 4. Etude statistique

Toutes les expériences ont été faites en triplicata, les résultats ont été présentés par la moyenne pour chaque cas. Le test de Student ( $p \leq 0,05$ ) est également appliqué pour la détermination de la différence entre les deux variétés en utilisant le logiciel IBM SPSS Statistics version 22.0.

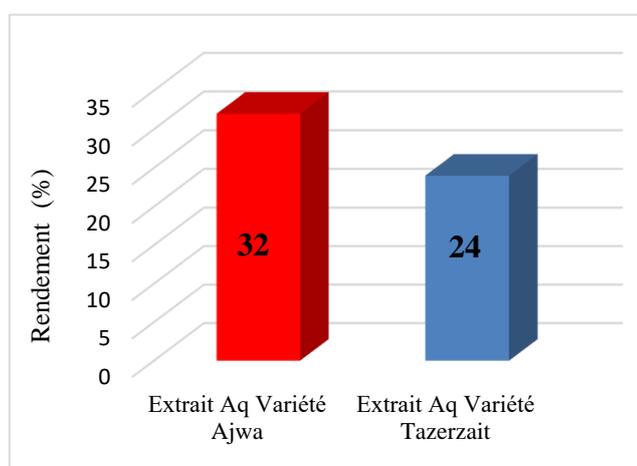
# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussion**

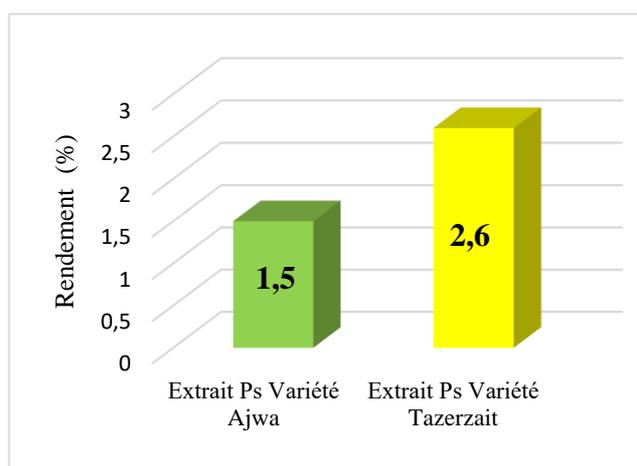
Les résultats de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux et des polysaccharides totaux des deux variétés des dattes sont les suivantes.

### 1. Rendement en extraits secs des extraits aqueux et des polysaccharides

Les extraits bruts récupérés après évaporation à sec sous pression réduite, sont pesés pour déterminer le poids sec. Le rendement est déterminé par rapport au poids initial du matériel végétal ayant subi l'extraction. Le pourcentage de rendement de chaque extrait de différentes variétés est calculé, les résultats sont représentés dans la **fig. 11** et **12** (les résultats présente la moyenne  $\pm$  écart type de trois essais).



**Figure 11 :** Rendement des extraits aqueux.



**Figure 12 :** Rendement des extraits bruts des polysaccharides

La variété "Ajwa" présente un rendement en extrait sec de  $32 \pm 1.7$  % plus élevé en comparant avec celui de la variété "Tazerzait" qui est de  $24 \pm 1.1$  %. Par contre cette dernière présente une teneur en polysaccharides de  $2.6 \pm 0.9$  % qui est plus élevée par rapport à la variété "Ajwa" qui représente  $1.5 \pm 0.4$  %. Cela peut être expliqué par la richesse de la datte "Ajwa" en différents métabolites (ex.

polyphénols), dont les polysaccharides ne représentent pas la fraction majoritaire en comparant avec la variété "Tazerzait".

## 2. L'activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits des dattes a été réalisée par deux techniques chimiques (l'ABTS et le piégeage du radical libre DPPH).

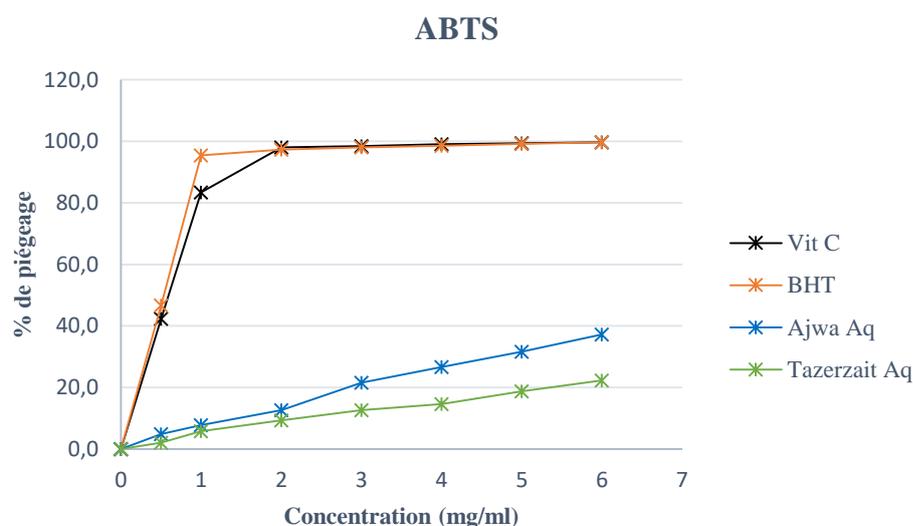
L'activité antioxydante vis-à-vis le radical ABTS a été évaluée, par spectrophotomètre UV-Visible, en suivant la réduction de ce radical, qui s'accompagne par son passage de couleur verte à la couleur verte claire jusqu'à disparition totale de la couleur, à une longueur d'onde  $\lambda = 734$  nm.

Le mécanisme de piégeage des radicaux DPPH est basé sur la réduction de DPPH en DPPH-H en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, entraînant la décoloration de la couleur pourpre et une diminution de l'absorbance à une longueur d'onde  $\lambda = 515$  nm, ceci permet d'évaluer l'activité des différents extraits vis-à-vis ce radical. Une absorption plus faible indique une activité de piégeage des radicaux DPPH plus importante.

A des fins comparatives, deux antioxydants standards ont été utilisés, la Vitamine C (acide ascorbiques) et le BHT. Les valeurs obtenues représentent la moyenne de trois essais.

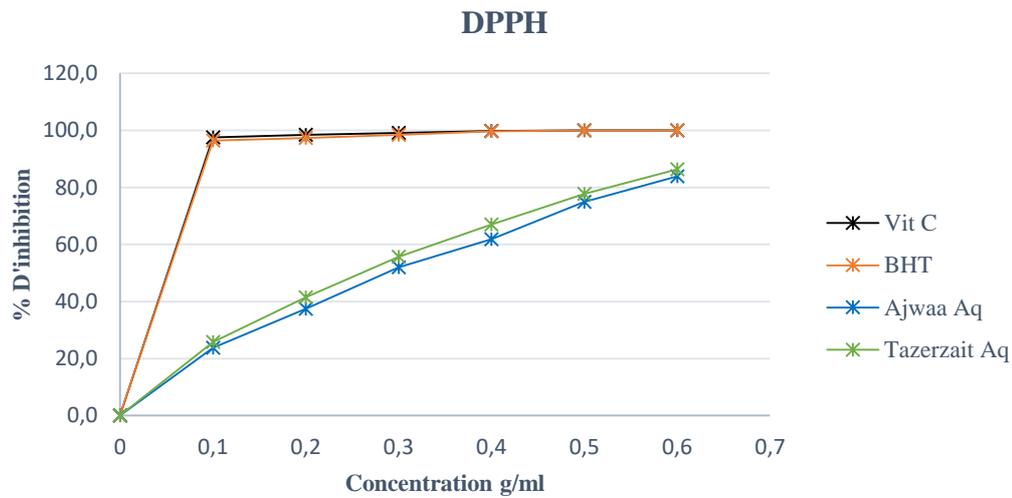
Ci-après les représentations graphiques des activité antioxydantes, vis-à-vis les radicaux ABTS et DPPH, des extraits aqueux et des extraits des polysaccharides respectivement.

### 2.1. Activité anti-radicalaire par la méthode ABTS des extraits Aq



**Figure 13:** Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits aqueux (test d'ABTS).

## 2.2. Activité anti-radicalaire par la méthode DPPH des extraits Aq



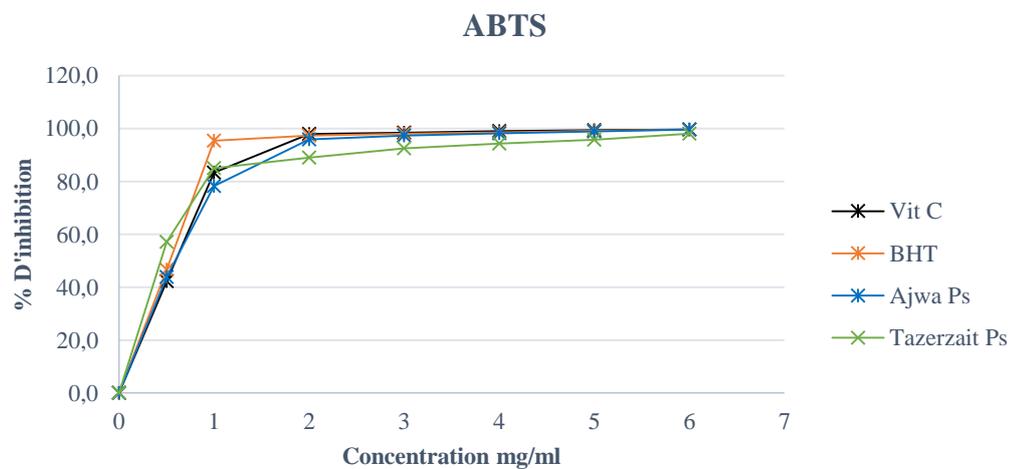
**Figure 14 :** Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits aqueux (test DPPH).

Ces profils d'activité anti-radicalaire obtenus (ABTS et DPPH) révèlent que les extraits possèdent une activité anti-radicalaire proportionnelle à la concentration des extraits.

D'après le profil de DPPH, l' $EC_{50}$  est de l'ordre de 0.25 g/ml et 0.27 g/ml pour les extraits aqueux des deux variétés Tazerzait et Ajwa respectivement.

L'étude statistique indique une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les extraits et les témoins pour les deux tests ce qui montre une activité anti-radicalaire moyenne.

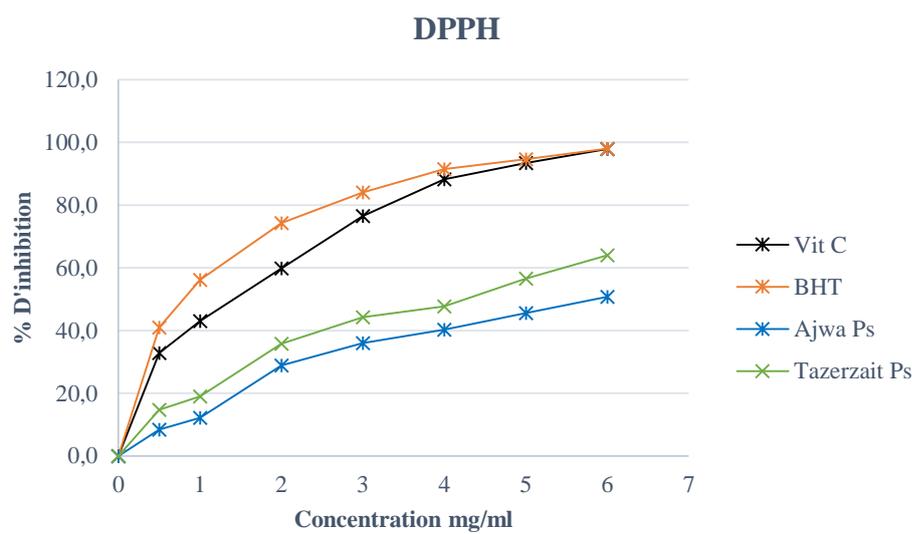
## 2.3. Activité anti-radicalaire par la méthode ABTS des extraits Ps



**Figure 15 :** Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits bruts des polysaccharides (test d'ABTS).

Une diminution de la densité optique du milieu réactionnel, après l'addition des standards a été observée à partir de la concentration de 0.5 mg/ml. Cette observation a été remarquée même pour les extraits bruts des polysaccharides, ce qui révèle une activité voisine de celle des témoins (BHT et Vit C) qui atteint 99 % de piégeage du radical ABTS.

#### 2.4. Activité anti-radicalaire par la méthode DPPH des extraits Ps



**Figure 16 :** Activité anti-radicalaire des témoins et des extraits bruts des polysaccharides (test DPPH).

A partir de ce profil, la valeur d'EC<sub>50</sub> de chaque extrait est déterminée. Elle est de l'ordre de 4 mg/ml pour l'extrait brut des polysaccharides de la variété Tazerzait, et 6 mg/ml pour celui de la variété Ajwa.

La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa EC<sub>50</sub> est petite (Popovici *et al.*, 2009), donc ces deux extraits possèdent une activité relativement élevée mais inférieure à celle du Vit C et BHT pour toutes les concentrations testées dans la présente étude.

Ces profils d'activité anti-radicalaire obtenus (ABTS et DPPH) révèlent que les extraits possèdent une activité anti-radicalaire proportionnelle à la concentration des extraits.

Les différentes activités des polysaccharides de piégeage des radicaux dans différents systèmes d'évaluation pourraient suggérer que la composition chimique avait un certain effet sur l'activité antioxydante. Ainsi, Ces résultats indiquent que les polysaccharides des dattes peuvent inhiber efficacement les radicaux DPPH<sup>•</sup> et ABTS<sup>•+</sup>, et l'explication pourrait être conclue que les

polysaccharides de Tazerzait et Ajwa peuvent agir comme donneur d'électron et/ou d'hydrogène pour éliminer les radicaux libres et ont ensuite montré une activité antioxydante.

En comparaison avec les antioxydants standards (BHT et Vit C), les extraits des polysaccharides testés s'avèrent actifs. Ceci est en accord avec Yang *et al.* (2010), qui a déclaré que les polysaccharides végétaux ont montré une forte activité antioxydante et peuvent être explorés comme de nouveaux antioxydants potentiel.

En effet, des études *in vitro* ont démontré les propriétés antioxydantes des polysaccharides par des méthodes de piégeage des radicaux libres. Ainsi, les résultats obtenues sont en accord avec Chen *et al.* (2016a); Chen *et al.* (2016b); Xu *et al.* (2016); Zeng *et al.* (2016); Fan *et al.* (2017); Li *et al.* (2017); Wang *et al.* (2017); Xu *et al.* (2017); Yang *et al.* (2017); Zhang *et al.* (2017), qui ont isolés les polysaccharides hydrosolubles de différentes plantes, champignons et algues, dont ils ont montrés une activité antioxydante très importante, et dont l' $EC_{50}$  varie entre 0.4 – 5 mg/ml et 1 – 3 mg/ml pour les teste DPPH et ABTS respectivement.

L'étude statistique, après la réalisation des deux tests DPPH et ABTS, ne montre aucune différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les extraits bruts de polysaccharides des deux variétés Ajwa et Tazerzait. Pour le test ABTS, aucune différence significative ( $p < 0.05$ ) n'a été observée entre les extraits bruts de polysaccharides des deux variétés et les témoins. Par contre, une différence significative ( $p < 0.05$ ) a été observée entre les extraits bruts de polysaccharides des deux variétés et les témoins pour le test DPPH.

# **Conclusion et perspectives**

Les dernières décennies sont marquées par l'intérêt particulier porté à la mise en valeur des plantes à intérêt médicinale comme source de substances bioactives naturelles. De ce fait, de nombreuses études s'intéressent, de plus en plus, aux effets thérapeutiques des antioxydants d'origine naturelle.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante des polysaccharides hydrosolubles et de l'extrait aqueux, obtenus à partir de deux variétés de datte Ajwa et Tazerzait.

Les rendements massiques des extraits des polysaccharides hydrosolubles sont de 2.6 % pour Tazerzait et 1.5 % pour Ajwa, et ceux des extraits aqueux sont entre 24 % et 32 % pour les deux variétés respectivement.

Toutefois, le test au DPPH révèle que les extraits bruts des polysaccharides des deux variétés sont les plus actifs comme piègeur du radical DPPH, alors que les extraits aqueux ont montré une activité anti-radicalaire moyenne. Les mêmes résultats sont obtenus par le test ABTS, dont les extraits bruts de polysaccharides atteignent 98% d'inhibition du radical ABTS. Ainsi, d'après l'analyse statistique, aucune différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les extraits bruts des polysaccharides des deux variétés, et entre ces extraits et les témoins testés (BHT, Vitamine C) n'a été observée.

En perspectives, des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence car l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et source naturelle biologiquement active. En effet, afin de confirmer les résultats obtenus, une étude complémentaire approfondie et plus prometteuse concernant l'identification et la caractérisation des résidus glycosidique qui constituent ces polysaccharides, ainsi que leurs activités biologiques et leurs potentialités dans les secteurs technologique et agroalimentaire est nécessaire.

De plus, pour un meilleur rendement d'extraction il est souhaitable d'agir sur les conditions d'extraction telle que la température, le temps d'extraction, le type et le pourcentage d'alcool ajouté au cours de la précipitation des polysaccharides.

**Références  
bibliographiques**

- Abdelaziz, M., 2013. Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* et *Salvia barrelieri*). Institut des Sciences Agronomiques. Université Hassiba Ben Bouali, Chlef, p. 118.
- Ahmed, M., 2011. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru., Département des Sciences Biologiques. Université ABOUBAKER Belkaid, p. 132.
- Ameer, A., Allaith, A., 2008. Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. International Journal of Food Science and Technology 43 1033-1040.
- Arneson, W., Brickell, J., Diana, M., 2007. Overview of Clinical Chemistry In: Fratantoro, C.A. (Ed.), Clinical Chemistry. A Laboratory Perspective. F. A. Davis Company, Philadelphia, USA, pp. 16-17.
- Arouma, O.I., 1994. Deoxyribose Assay for Detecting Hydroxyl Radicals. Methods in enzymology 233, 57-66.
- Arouma, O.I., 1996. Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. Journal of the American Oil Chemists' Society 73, 1617-1625.
- 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 44, 1812 –1822.
- Belmir, S., Boucherit, K., Boucherit-Otmani, Z., Belhachemi, M.-H., 2015. Effect of aqueous extract of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) on therapeutic index of amphotericin B. Pharmacognosie, 1-5.
- Benaissa, B., 2012. conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Science de la matière. Université Toulouse III - Paul Sabatier, p. 256.

- Bendahou, A., Dufresne, A., Kaddami, H., Habibi, Y., 2007. Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of *Phoenix dactylifera* L. Carbohydrate polymers 68, 601–608.
- Benhammu, N., 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Département des Sciences Biologiques. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.
- Blama, A., Djema, S., Ben, R., Malak, F., Ouennougih, M., Ouagueni, M.C.E., Tayeb, M., Boulouar, N., 2014. 17 wilayas productrices de dattes : Une richesse inépuisable pour l'Algérie. Le Monde des Dattes. AGRIVET CONSULTING, Algérie, pp. 14-15.
- Boudries, H., Kefalas, P., ndez, D.m.H.-M., 2007. Carotenoid composition of Algerian date varieties (*Phoenix dactylifera*) at different edible maturation stages. Food Chemistry 101.
- Bruneton, J., 2009. Pharmognosie phytochimie Plantes médicinales. Lavoisier, Paris.
- Chen, G., Yuan, Q., Saeeduddin, M., Ou, S., Zeng, X., Ye, H., 2016a. Recent advances in tea polysaccharides: Extraction, purification, physicochemical characterization and bioactivities. Carbohydrate polymers 153, 663-678.
- Chen, Y.-X., Liu, X.-Y., Xiao, Z., Huang, Y.-F., Liu, B., 2016b. Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations. International journal of biological macromolecules 91, 505-509.
- Djerbi, M., 1994. Précis de phéniculture. FAO, Rome, p. 191.
- El-Haci, I.A., Bekkara, F.A., Mazari, W., Gherib, M., 2013. Phenolics content and antioxidant activity of some organic extracts of endemic medicinal plant *Anabasis aretioides* Coss. & Moq. from Algerian Sahara. Pharmacognosy Journal 5, 108-112.
- Fan, J., Feng, H., Yu, Y., Sun, M., Liu, Y., Li, T., Sun, X., Liu, S., Sun, M., 2017. Antioxidant activities of the polysaccharides of *Chuanminshen violaceum*. Carbohydrate Polymers 157, 629-636.
- FAOStat, 2007. Récupéré sur Statistique Agricoles: <http://faostat.fao.org/>.

FAOStat, 2014. Récupéré sur Statistique Agricoles: <http://faostat.fao.org/>.

Farah, B.A., 2011. Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera* L.». Département de Génie des Procédés. Université FERHAT ABBAS, Sétif, p. 110.

Favier, A., 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. l'actualité chimique. Laboratoire Lésions des acides nucléiques, Centre d'Étude Nucléaire de Grenoble, Grenoble., pp. 108-115.

Fredo, B.T.Z., 2013. Les palmiers dattiers « *Phoenix dactylifera* » à Toliara : étude de la filière, utilisation et diversité variétale., Département des Sciences Biologiques. Université de Toliara.

Gaël, R., 2005. Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges. . Chimie appliquée - Chimie des Substances Naturelles. Université de Limoges.

Ghnimi, S., Umer, S., Karim, A., Kamal-Eldin, A., 2017. Date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) : An underutilized food seeking industrial valorisation. NFS Journal 6, 1-10.

Gros-Balthazard, M., Newton, C., Ivorra, S., MargaretaTengberg, Pintaud, J.-C., Terral, J.-F., 2013. Origines et domestication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) État de l'art et perspectives d'étude. Revue d'ethnoécologie 4, 1 - 16.

HACIŞEVKĐ, A., 2009. An Overview Of Ascorbic Acid Biochemistry Journal of the Faculty of Pharmacy of Ankara University 38, 233-255.

Helme, J.-P., Chazan, J.-B., Perrin, J.-L., 2006. Les antioxydants. In: Martini, M.-C., Seiller, M. (Eds.), Actifs et additifs en cosmétologie. Lavoisier, France, pp. 337-352.

Isabelle, C., Mireille, P., 2008. Biochimie. Wolters Kluwer, France.

Ishurd, O., Sun, C., Xiao, P., Ashour, A., Pan, Y., 2002. A neutral B-D-glucan from dates of the date palm, *Phoenix dactylifera* L. Carbohydrate Research 337, 1325–1328.

Jaberian, H., Piri, K., Nazari, J., 2013. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. Food Chemistry 136, 237-244.

- Khaled, A.H., 2000. Effects of date extract on adhesion of *Candida* species to human buccal epithelial cells in vitro. *Oral\_Pathol\_Med* 29, 200–205.
- Khalid, S., Khalid, N., Khan, R.S., Ahmed, H., Ahmad, A., 2017. A review on chemistry and pharmacology of Ajwa date fruit and pit. *Trends in Food Science & Technology*, 1 -38.
- Khalida, B., 2007. Contribution à la connaissance de la biodiversité du palmier dattier pour une meilleure gestion et une valorisation de la biomasse : caractérisation morphologique et biochimique des dattes des cultivars les plus connus de la région du Mzab, classification et évaluation de la qualité., Département de Technologie Alimentaire. Université de Boumerdes, p. 186.
- Li, J.-E., Wang, W.-J., Zheng, G.-D., Li, L.-Y., 2017. Physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Gynura procumbens* leaves by fractional precipitation. *International journal of biological macromolecules* 95, 719-724.
- Li, X., Wang, X., Chen, D., Chen, S., 2011. Antioxidant Activity and Mechanism of Protocatechuic Acid in vitro. *Functional Foods in Health and Disease* 7, 232-244.
- Magalhaes, L.M., Segundo, M.A., Resis, S., Lima, J.L.F.C., 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta* 613, 1-19.
- Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., Fritsch, P., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *MEDECINE/SCIENCES* 20, 458-463.
- Menon, A.N., Indu, S., 2010. A STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF DIFFERENT EXTRACTS OF CURRY LEAF(*MURRAYA KOENIGII L.*). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 9, 1036-1046.
- Meziti, A., 2009. Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella satival*, étude in vitro et in vivo. Département des Sciences Biologiques. Université El-Haj Lakhdar, Batna, p. 111.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26, 212-219.
- Munier, P., 1973. Le palmier dattier. *Maisonneuve et Larose*, Paris, p. 221.

- NADAL, B., 2010. Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants. Faculté des Sciences D'ORSAY. Université PARIS SUD XI, Paris, pp. 134-135.
- Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 4, 25-39.
- Pyrzynska, K., Pekał, A., 2013. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical methods* 5, 4288-4295.
- Rafael, M., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R., 2011. Topical anti-inflammatory plant species: Bioactivity of *Bryonia dioica*, *Tamus communis* and *Lonicera periclymenum* fruits. *Industrial Crops and Products*, 1-8.
- Rima, A., 2013. Analyse de la diversité variétale du Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera* L.): Cas des Ziban (Région de Sidi Okba). Département Des Sciences Agronomiques. Université MOHAMED Khider, Biskra, p. 105.
- Robyt, J.F., 1998. *Essentials of carbohydrate chemistry*. Springer, New York.
- Sanchez-Moreno, C., 2002. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International* 8, 121-137.
- Sara, B., 2012. Etude du pouvoir antifongique et antibactérien des extraits de dattes « Ajwa ». Département de Biologie. Université Aboubekr-Belkaid, Tlemcen, p. 75.
- Shalaby, E.A., Shanab, S.M.M., 2012. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 42, 556-564.
- Shekhar, T.C., Anju, G., 2014. Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine* 1, 244-249.
- Shraideh, Z.A., Abu-Elteen, K.H., Sallal, A.-K.J., 1998. Ultrastructural effects of date extract on *Candida albicans*. *Mycopathologia* 142, 119-123.

- Song, F.-L., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xiao, Q., Kuang, L., Li, H.-B., 2010. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Selected Chinese Medicinal Plants. *International Journal of Molecular Sciences* 11, 2362 - 2372.
- Stephen, A.M., Phillips, G.O., Williams, P.A., 2006. Food polysaccharides and their applications. CTaylor & Francis group, Florida, USA.
- Toutain, G., 1967. Le palmier dattier culture et production. *Al Awamia* 25, 84-151.
- Trizitis, G., Bartroz, G., 2010. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Biochimica Polonica* 57, 139-142.
- Vayalil, P.K., 2002. Antioxidant and Antimutagenic Properties of Aqueous Extract of Date Fruit (*Phoenix dactylifera* L. Areaceae). *Journal of Agricultural And Food Chemistry* 50, 610-617.
- Wang, M., Zhu, P., Zhao, S., Nie, C., Wang, N., Du, X., Zhou, Y., 2017. Characterization, antioxidant activity and immunomodulatory activity of polysaccharides from the swollen culms of *Zizania latifolia*. *International journal of biological macromolecules* 95, 809-817.
- Wang, Y., Liu, Y., Hu, Y., 2014. Optimization of polysaccharides extraction from *Trametes robiniophila* and its antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers* 111, 324–332.
- Weinman, S., Méhul, P., 2004. *Toute La Biochimie*. Dunod, Paris.
- Xu, Y., Gao, Y., Zhong, M., Li, J., Cao, H., Huang, S., Wei, R., Zhang, K., 2017. Isolation, characterization and bioactivities of the polysaccharides from *Dicliptera chinensis*(L.) Juss. *International journal of biological macromolecules* 101, 603-611.
- Xu, Z., Wang, H., Wang, B., Fu, L., Yuan, M., Liu, J., Zhou, L., Ding, C., 2016. Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from the leaves of *Lilium lancifolium* Thunb. *International journal of biological macromolecules* 92, 148-155.
- Yang, B., Zhao, M., Prasad, K.N., Jiang, G., Jiang, Y., 2010. Effect of methylation on the structure and radical scavenging activity of polysaccharides from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp. *Food Chemistry* 118, 364-368.

- Yang, X., Huang, M., Qin, C., Lv, B., Mao, Q., Liu, Z., 2017. Structural characterization and evaluation of the antioxidant activities of polysaccharides extracted from Qingzhuan brick tea. *International journal of biological macromolecules* 101, 768-775.
- Yuan, J.-F., Zhang, Z.-Q., Fan, Z.-C., Yang, J.-X., 2008. Antioxidant effects and cytotoxicity of three purified polysaccharides from *Ligusticum chuanxiong* Hort. *Carbohydrate polymers* 74, 822-827.
- Zaid, A., 1999. Date palm cultivation. United Nations FAO Plant Production and Protection Paper.
- Zakaria, B., 2014. Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional Est algérien): Activité biologique. Département des Sciences Biologiques. Université Kasdi Merbah, Ouargla, p. 219.
- Zeng, B., Su, M., Chen, Q., Chang, Q., Wang, W., Li, H., 2016. Antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii*. *Carbohydrate polymers* 153, 391-398.
- Zhang, L., Liu, X., Wang, Y., Liu, G., Zhang, Z., Zhao, Z., Cheng, H., 2017. In vitro antioxidative and immunological activities of polysaccharides from *Zizyphus Jujuba* cv. *Muzao*. *International journal of biological macromolecules* 95, 1119-1125.
- Zineb, G., Mustapha, B., Mokhtar, S., Mohamed, Y., Nadjat, G., Zaouia, K., 2012. Comparison of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Three Varieties of Algerian Dates. *Algerian journal of arid environment* 42 - 48.

# **Annexes**

## Préparation des concentrations

Pour la préparation des concentrations des échantillons à testés, deux solutions mères de concentration de 10 mg/ml et 600 mg/ml ont été préparés à base des différents extraits.

### Annexe 1 : Préparation des concentrations de 0 à 6 mg/ml

Tubes n° Réactifs	1	2	3	4	5	6	7	8
Eau distillée (µl)	1000	950	900	800	700	600	500	400
Solutions mères (µl)	0	50	100	200	300	400	500	600
Concentration finale (mg/ml)	0	0.5	1	2	3	4	5	6

### Annexe 2 : Préparation des concentrations de 100 à 600 mg/ml

Tubes n° Réactifs	1	2	3	4	5	6	7
Eau distillée (µl)	750	125	250	375	500	625	0
Solutions mères (µl)	0	625	500	375	250	125	750
Concentration finale (mg/ml)	0	100	200	300	400	500	600