

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN

Faculté des Sciences de la Nature et la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie

Laboratoire de Produits Naturels



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

**En Sciences Biologiques**

**Option : Biochimie**

**Evaluation de l'activité antioxydante, l'activité anti-hémolytique et la cytotoxicité *in vitro* de l'extrait des noyaux de *Phoenix dactylifera* L variété « Ajwa »**

**Présenté par : AICI Hidayet**

Soutenue le : 01-07-2021

Devant le jury composé de :

Présidente	<b>M<sup>me</sup> GHALEM Meriem</b>	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	<b>M<sup>r</sup> CHAUCHE Tarik Med</b>	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	<b>M<sup>lle</sup> MEZOUAR Dounia</b>	MCB	Université de Tlemcen

**Année Universitaire : 2020-2021**

## **Remerciements**

*Louange à ALLAH de nous avoir guidé dans le bon chemin en l'implorant dans nos prières afin de nous donner non seulement le courage, la force et la patience de réaliser ce travail.*

*Je souhaite remercier mon encadreur, **M<sup>r</sup> CHAOUCHE Tarik Med**, MCA, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, d'avoir accepté encadrer ce modeste travail, Merci pour votre disponibilité. Merci pour votre compréhension, votre grande gentillesse et pour la confiance que vous m'avaient témoigné pendant la réalisation de ce travail. Malgré vos importantes obligations, vous aviez toujours été présent pour me recadrer dans la bonne direction et ceci été fondamental dans la bonne réalisation de ce travail. Soyez assurées de ma profonde gratitude*

*J'adresse de sincères remerciements à **Mme GHALEM Meriem**, MCA, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, pour m'avoir apporté un appui constant au cours de ce travail. Je la remercie pour son aide, pour ses qualités humaines et de me faire l'honneur de présider ce jury.*

*Je désire grandement remercier **M<sup>lle</sup> MEZOUAR Dounia** MCB faculté des sciences de la nature et de la vie, science de la terre et de l'univers, université de Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je remercie ma sœur **D<sup>r</sup> AICI Lemia** pour son aide au cours de ce travail et pour son soutien.*

*Je remercie ma collègue **M<sup>lle</sup> Belbachir Nadjjet** pour son aide au laboratoire de recherche et pour sa générosité.*

*En fin Je tiens à remercier tous les membres de l'équipe Laboratoire de produits naturels, pour leur aide et leur bonne humeur.*

## *Dédicace*

*A mes très chers parents.*

*Unique et irremplaçable, aucune dédicace ne saurait exprimer la reconnaissance, le respect et l'amour que je vous porte. Votre aide, vos encouragements et vos prières m'ont été d'un grand secours tout au long de mes études. Que Dieu vous garde et vous prête une longue vie et une bonne santé.*

*A mon très cher mari Mustapha qui s'est montré très compréhensif, et m'a beaucoup encouragé et soutenu durant toutes les épisodes difficiles que j'ai connus pendant la réalisation de ce travail.*

*A mon fils Mehdi, Je pris Dieu tout puissant de te prêter une longue vie et bonne santé.*

*A mes très cher sœurs Lemia et Aya qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*A ma nièce Meriem et mon neveu Abdelwaheb.*

*A mes frères Sami et Abdelsamad.*

*A mes beaux parents.*

*A mes beaux frères et belles sœurs.*

*A toute ma famille et tous mes ami(e)s qui m'ont soutenu de près ou de loin.*

## Résumé

L'objectif recherché à travers cette étude vise le dosage des composés phénoliques, l'évaluation de l'activité antioxydante, l'activité hémolytique et anti-hémolytique de l'extrait de noyaux de dattes *Phoenix dactylifera* L, variété « Ajwa ».

L'extrait de la poudre de noyaux a été préparé par des extractions successives, l'hexane pour éliminer la matière grasse et par un mélange de solvants (méthanol, éthanol et acétone) pour extraire les composés phénoliques. La teneur en polyphénols est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium et les tanins par la vanilline HCl. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de la capacité antioxydante totale, le test hémolytique *in vitro* a été utilisé pour mesurer la toxicité de l'extrait de noyaux à différentes concentrations sur les érythrocytes humains pendant 30 min à 37 °C.

Les taux de polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés présents dans l'extrait de noyaux sont 77,115 µg EAG/ mg ES, 28,10 µg EC/ mg ES et 42,063 µg EC/ mg ES, respectivement. Le résultat de la capacité antioxydante égale à 28.4 µg EAA/mg ES.

Les résultats du test de toxicité ont montré que l'activité hémolytique de l'extrait à une concentration de 20mg/ml n'a pas dépassé les 26,93%, pour l'activité anti-hémolytique de l'extrait, le pourcentage maximum d'inhibition d'hémolyse est 50,66% à une concentration de 18,75 µg/ml. Ces résultats confirment la capacité antioxydante et le faible pouvoir toxique des noyaux des dattes à des concentrations élevées.

**Mots clés:** noyaux de dattes, composés phénoliques, activité antioxydante, activité anti-hémolytique, hémolyse.

## Abstract

The objective searched in this study is the determination of phenolic compounds, the evaluation of the antioxidant activity, the hemolytic and anti-hemolytic activity of the extract of *Phoenix dactylifera L* date stones, variety "Ajwa".

The kernel powder extract was prepared by successive extractions, hexane to remove the fat and a mixture of solvents (methanol, ethanol and acetone) to extract the phenolic compounds. The polyphenol content is determined by the Folin-Ciocalteu method, the flavonoids by the aluminum trichloride method and the tannins by vanillin HCl. Antioxidant activity was evaluated by the method of total antioxidant capacity, the in vitro hemolytic test was used to measure the toxicity of the extract of nuclei at different concentrations on human erythrocytes for 30 min at 37 °C. The levels of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins present in the kernel extract are 77.115 µg EAG / mg ES, 28.10 µg EC / mg ES and 42.063 µg EC / mg ES, respectively. The result of the antioxidant capacity equal to 28.4 µg EAA/mg ES.

The toxicity results showed that the hemolytic activity of the extract at a concentration of 20 mg / ml did not exceed 26.93%, for the anti-hemolytic activity of the extract, the maximum percentage of The inhibition of hemolysis is 50.66% at a concentration of 18.75 µg / ml. These results confirm the antioxidant capacity and the low toxic power of date stones at high concentrations.

**Key words:** date stones, phenolic compounds, antioxidant activity, anti-hemolytic activity, hemolysis.

## الملخص

الهدف المنشود من خلال هذه الدراسة هو تحديد المركبات الفينولية ، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة ، والنشاط

الانحلالي ومضاد الانحلالي لمستخلص نواة التمر فينيكس داكتيليفيرا .

تم تحضير مستخلص مسحوق النواة عن طريق الاستخلاص المتتالي ، الهكسان لإزالة الدهن ومزيج من المذيبات (الميثانول والإيثانول والأسيتون) لاستخلاص المركبات الفينولية. يتم تحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد بطريقة ثلاثي

كلوريد الألومنيوم والعفص بواسطة الفانلين.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال طريقة السعة الكلية لمضادات الأكسدة ، واستخدم اختبار الانحلالي في المختبر لقياس سمية مستخلص النوى بتركيزات مختلفة على كريات الدم الحمراء البشرية لمدة 30 دقيقة عند 37 درجة

مئوية.

مستويات البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص المكثف الموجودة في خلاصة انواة هي

77.115 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ملغ مستخلص جاف , 28.10 ميكروغرام مكافئ حمض الكتشنين لكل ملغ مستخلص جاف و 42.063 ميكروغرام مكافئ حمض الكتشنين لكل ملغ مستخلص جاف على التوالي.

وكانت نتيجة قدرة مضادات الأكسدة 28.4 ميكروغرام مكافئ حمض الأسكوربيك لكل ملغ مستخلص جاف

أظهرت نتائج السمية أن النشاط الانحلالي للمستخلص بتركيز 20 ملغ / مل لا يزيد عن 26.93% ، أما بالنسبة للنشاط المضاد للانحلال الدموي للمستخلص ، فإن النسبة القصوى لتثبيط انحلال الدم هي 50.66% بتركيز قدره 18.75 ميكروغرام / مل. تؤكد هذه النتائج القدرة المضادة للأكسدة وقوة السمية المنخفضة لنواة التمر بتركيزات عالية

**الكلمات المفتاحية:** نواة التمر ، مركبات فينولية ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد لانحلال الدم ، انحلال الدم.

## Liste des figures

<b>Figure.1</b> : Organisation structurale de la membrane érythrocytaire humaine.....	10
<b>Figure.2</b> : Structure générale de flavonoïdes.....	13
<b>Figure.3</b> : Structure de base des principaux flavonoïdes.....	14
<b>Figure.4</b> : Structure de tanin hydrolysable et tanin condensé.....	15
<b>Figure.5</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux...28	
<b>Figure.6</b> : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	29
<b>Figure.7</b> : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.....	29
<b>Figure.8</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	30
<b>Figure.9</b> : pourcentage d'hémolyse en présence de différentes concentrations de l'extrait....	31
<b>Figure.10</b> : Pourcentage d'hémolyse en présence de différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	31
<b>Figure.11</b> : Pourcentage d'inhibition d'hémolyse induite par différente concentration d'extrait.....	32

## Liste des photos

<b>Photo.1</b> : <i>Phoenix Dactylifera L</i> .....	5
<b>Photo.2</b> : Fruit de dattier.....	5
<b>Photo. 3</b> : Quelques variétés des dattes.....	6
<b>Photo.5</b> : Noyaux de dattes broyés.....	17

## Liste des images

<b>Image.1</b> : Caractéristique de Noyau de datte.....	7
---	---

## Liste des tableaux

<b>Tableau.1</b> : Production en tonne.....	5
<b>Tableau.2</b> : Usage médicinal des dattes.....	8
<b>Tableau.3</b> : Structure des dérivés de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique.....	13
<b>Tableau.4</b> : Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	19
<b>Tableau.5</b> : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	20
<b>Tableau.6</b> : Protocole de dosage des tanins.....	21
<b>Tableau.7</b> : Mode opératoire pour mesurer la capacité antioxydante totale.....	22

## Liste des abréviations

**ROS** : Espèces réactives de l'oxygène.

**RNS** : espèces réactives de l'azote.

**SOD** : superoxyde dismutase.

**Rdt** : Rendement.

**EAG** : équivalent d'acide gallique.

**ES** : extrait sec.

**EC** : équivalent de la catéchine.

**CAT** : Capacité antioxydante totale.

**EAA** : équivalent d'acide ascorbique.

**PBS** : solution tampon phosphate saline.

**GRh** : globule rouge humaine.

## Table des matières

Résumé

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

#### 1. *Phoenix daactylifera*L

1.1. Généralité sur *Phoenix dactylifera* L.....4

1.2. Taxonomie et systématique ..... 4

1.3. Origine du palmier dattier ..... 5

1.4. Les zones de culture..... 5

1.5. Les dattes..... 6

1.6. Noyaux de dattes..... 6

1.7. Utilisation des noyaux de datte et ses extraits..... 7

#### 2. Globule Rouge

2.1. Définition..... 9

2.2. Membrane de globule rouge..... 9

2.3. Hémolyse..... 9

2.4. Mécanisme d'hémolyse..... 9

#### 3. Activité antioxydante

3.1. Stress oxydant..... 10

3.2. Origine du stress oxydant..... 10

3.3. Définition d'un radical libre..... 11

3.4. Pathologie liée aux stress oxydants..... 11

3.5. Définition d'un antioxydant ..... 11

3.6. Antioxydant endogène ..... 11

3.7. Antioxydant exogène..... 12

#### 4. Les composés phénoliques

4.1. Les acides phénoliques .....	12
4.1.1. Acides hydroxybenzoïques .....	12
4.1.2. Acides hydroxycinnamiques .....	12
4.2. Les flavonoïdes.....	13
4.2.1. Flavones et flavonols .....	13
4.2.2. Flavanones et flavanonols .....	14
4.2.3. Les flavan-3-ols. ....	14
4.2.4. Les anthocyanes .....	14
4.3. Les tannins.....	15
4.3.1. Tanins hydrolysables .....	15
4.3.2. Tanins condensés.....	15

## **Chapitre II : Matériels et méthodes.**

1. Matériel végétal (Noyaux de dattes). ....	17
2. Etude phytochimique .....	17
2.1. Extraction par soxhlet. ....	17
2.1.1. Extraction de la matière grasse. ....	17
2.1.2. Extraction des composés phénoliques.....	17
2.1.3. Calcul des rendements en extraits secs .....	18
2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	18
2.3. Dosage des flavonoïdes.....	19
2.4. Dosage des tanins.....	21
3. Etude biologique.....	22
3.1. Capacité antioxydante totale.....	22
3.2. Test de cytotoxicité.....	23
3.4. Evaluation de l'activité anti-hémolytique.....	24

## **Chapitre III : résultats et interprétation**

1. Etude phytochimique.....	27
1.1. Rendements de l'extraction. ....	27
1.1.1. Rendements en matière grasse. ....	27

1.1.2. Rendements en composés phénoliques. ....	27
1.2.Teneurs en composés phénoliques.....	27
1.3.Teneurs en flavonoïdes.....	28
1.4.teneurs en tanins condensés.....	29
2. Capacité antioxydante totale.....	30
3. Etudes biologiques.....	30
3.1.Etude de cytotoxicité .....	30
3.2.Etude de l'activité anti-hémolytique.....	32
<b>Discussion générale</b> .....	<b>35</b>
<b>Conclusion et prescriptives</b> .....	<b>38</b>
<b>Référence</b>	

# **Introduction générale**

# Introduction générale

---

## Introduction générale

Depuis toujours, les hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes, qui forment des sources riches en produits naturels, pour soigner diverses maladies. Les plantes sont des réservoirs de molécules bioactives encore peu explorées, elles représentent une immense source des composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes, tannin condensé, etc.). L'extraction et l'isolation de ces composés à partir d'espèces de plantes utilisées en médecine traditionnelle peuvent être des ressources prolifiques de nouveaux médicaments (Karmakar et al., 2011).

Aujourd'hui, les agents antioxydants de source naturelle ont suscité un intérêt particulier car, ils peuvent protéger le corps humain contre les maladies causées par les radicaux libres et ceci avec moins d'effets secondaires, contrairement aux agents antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroquinone tertiaire (BHQT) largement commercialisés dans l'industrie alimentaire. Leurs applications provoquent un potentiel risque et toxicité pour la santé humaine. Pour cette raison, la recherche de molécules bioactives d'origine naturelle a constitué d'ailleurs un des axes prioritaires ces dernières années.

Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L (600 variétés) est le pilier des écosystèmes oasiens ou il permet de limiter les dégâts d'ensablement, joue un rôle protecteur contre le rayonnement solaire intense pour les cultures sous-jacentes (arbres fruitiers, cultures maraichères et céréales). Par sa présence dans ces zones désertiques, les diverses formes de vies animales et végétales, indispensables pour le maintien et la survie des populations, sont possibles. Il a de plus un rôle socioéconomique majeur pour les populations de ces régions pour les quelles il fournit un fruit, la datté dont les qualités alimentaires sont indéniables.

Vu l'importance de la valorisation des sous-produits de *Phoenix dactylifera* L, variété « Adjwa », on a opté à réaliser ce travail qui a comme objectif la quantification des composés phénoliques par des méthodes spectrophotométriques. Le second objectif est d'évaluer l'activité antioxydante, activité hémolytique et activité anti-hémolytique d'un extrait de noyaux.

Ce manuscrit comporte trois chapitres. Le premier chapitre présente un rappel des principales données bibliographiques à savoir la présentation botanique de *Phoenix dactylifera* L, une synthèse bibliographique sur les composés phénoliques, il renferme aussi un rappel sur l'activité antioxydante et l'hémolyse. Le deuxième chapitre matériel et méthodes, couvre l'ensemble des travaux personnels expérimentaux, principales méthodes,

## Introduction générale

---

matériels, produits chimiques et réactifs utilisés. Le troisième chapitre décrira en premier lieu les résultats acquis lors de travail avec une discussion générale.

On terminera ce travail de mémoire par une conclusion générale donnant un récapitulatif sur les principaux résultats obtenus, ainsi que les perspectives qui feront des objectifs d'ultérieurs travaux et une liste complète des références bibliographiques pour l'ensemble des chapitres.

# **Chapitre I: synthèse bibliographique**

# Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

## *1. Phoenix dactylifera L*

### **1.1. Généralité sur *Phoenix dactylifera L***

Il y a quelques millénaires, les dattes représentaient déjà un fruit d'excellence chez les Mésopotamiens et les Egyptiens des temps pharaoniques. Le palmier dattier est une plante médicinale symbolique, compagnon de l'homme depuis la nuit des temps. Ils sont des arbres des régions tropicales humides mais au cours des âges, ils se sont adaptés aux climats chauds, semi-arides ou arides. Si, en Afrique subsaharienne, cette famille est largement représentée au Sahara, on n'en rencontre que deux espèces, d'une importance économique majeure (Benchelah et Maka, 2006).

### **1.2. Taxonomie et systématique**

*Phoenix dactylifera L* est le nom scientifique du dattier qui lui a été attribué par Carl von Linné en 1734 (photo 1). Phoenix dérive de Phoinix, nom du dattier chez les Grecs de l'antiquité, dactylifera vient du latin dactylus dérivant du grec dactulos signifiant doigt, en raison de la forme du fruit (photo 2). C'est une plante dioïque, c'est-à-dire existe des dattiers males et des dattiers femelles. La classification du palmier dattier est comme présentée si dessous (Laouini, 2014) :

- Embranchement : Phanérogames.
- Sous-embranchement : Angiospermes.
- Classe : Monocotylédones.
- Groupe : Phoenocoides.
- Ordre : Palmales.
- Famille : Arécacées.
- Sous-famille : Coryphoideae.
- Genre : Poenix.
- Espèce : *Phoenix dactylifera L*.



**Photo 1.** *Phoenix Dactylifera L*



**Photo 2.** Fruit de dattier

### 1.3. Origine du palmier dattier

Le palmier dattier a été cultivé pour la première fois dans les zones arides et semi-arides chaudes de l'ancien monde situé entre l'Euphrate et le Nil, vers 4500 avant J.-C. Il connut ensuite une extension vers les autres régions du monde (Bengag 2009).

### 1.4. Les zones de culture

Le Moyen-Orient et le Sahara septentrional restent les zones de prédilection des dattes en excluant toute fois les régions trop proches qui ne favorisent pas une bonne maturation. L'Irak, qui compterait près d'un tiers des arbres plantés au monde, fut longtemps le premier producteur. L'Egypte avec la vallée du Nil et les oasis du désert libyque a depuis pris le relais. En Algérie, la région de Béchar, le Touat, le Tidikelt et le Mزاب ont de belles palmeraies, mais le pays des dattes se situe entre Ouargla, Oued Rhir et Oued Souf et se poursuit dans le Djerid et Nefzaoua en Tunisie. Dans le Sahara central, on connaît des palmeraies, celle de Djanet à l'extrême Sud-est algérien en est un exemple. Les palmeraies ont été aménagées aussi en Afrique du Sud, en Australie et aux Etats-Unis (Benchalah et Maka, 2006). Le tableau 01 donne la production mondiale des dattes, selon la base de données FAO 2019.

**Tableau 01.** Production en tonne

pays	production (milliers de tonnes)
<b>Egypte</b>	1 603 762
<b>Arabie Saoudite</b>	1 539 756
<b>Iran</b>	1 307 908
<b>Algérie</b>	1 136 025
<b>Irak</b>	639 315
<b>Reste du monde</b>	9 057 446

# Chapitre I : Synthèse bibliographique

## 1.5. Les dattes

La datte est considérée comme extrêmement nutritive et indispensable à l'équilibre de l'organisme. Le fruit contient en général peu d'eau. Les protides et lipides sont réduits 2,2% et 0,6% respectivement, peu de fibres 7 % au maximum, mais les glucides constituent 73 %. La datte est également très riche en éléments minéraux divers : magnésium, calcium, potassium, phosphore, fer. Elle offre aussi des vitamines B, PP. Sa valeur calorique tourne autour de 300 calories (**Benchelah et Maka 2006**).

Les dattes sont d'un apport énergétique important et sont bien adaptées à l'effort physique de longue durée. Ses sucres lents sont favorables à l'endurance. Au Sahara, c'est la nourriture de base des caravaniers. On les consomme donc fraîches, mures ou pour certaines, avant sa maturation complète (**Benchelah et Maka 2006**).



Image 1. Quelques variétés des dattes.

## 1.6. Noyau de datte

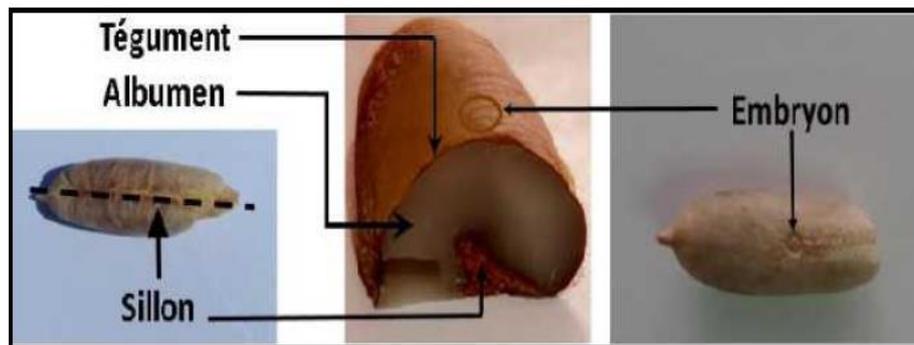
Le noyau est un organe de reproduction représente 7 à 30 % du poids total de datte. Il est de forme allongée entourée d'un endocarpe membraneux, arrondie, ovoïde, parfois sphérique. Plus ou moins volumineux, lisse ou pourvu de protubérances latérales. Sa couleur va du gris au brun. Il présente un sillon central et un embryon diamétralement opposé (photo 4).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

Un endosperme dur qui contient de cellulose sur l'intérieur des murs de la cellule. De plus le noyau contient des teneurs en lipides et en protéines plus que celui des dattes.

Des études menées sur la composition chimique de noyau montre sa richesse par les carbohydrates, il est une bonne source des fibres alimentaires (jusqu'à 94%), en huile à haute valeur ajoutée, glucose, gomme, matières protéiques solubles et insolubles, tannins, Anthocyanides, résine, pectose insoluble, matières colorantes, cellulose et sels fixes.



**Photo 4 :** Caractéristique de Noyau de datte.

### 1.7.Utilisation des noyaux de datte et ses extraits

L'huile extraite des noyaux est utilisée en pharmacologie, cosmétique et savonnerie, mais aussi peut être une source potentielle d'huile de table.

#### Utilisation pharmacologique

Dans la médecine arabe, les noyaux sont recommandés pour le traitement des maladies rénales, les infections biliaires, les maladies de la peau, pour soulager le rhumatisme et céphalée, guérir la lèpre, traitement de diabète et pour traiter de manière curative et/ou préventive les manifestations cutanées du vieillissement ; diminuer les rides, anti-tumorale et protecteur de certains types de cancer (**khalid et al, 2017**). Il a un bon effet sur l'utérus après l'accouchement. Ils servent à renouveler le sang et diminuer la fièvre. Ils sont utilisés dans les plaies, les lésions et l'inflammation.

Les noyaux réduits en poudres sont consommés comme café en raison de leur saveur styptique et odeur agréable, ils sont apaisants pour le cardiovasculaire (**Gasmi, 2012**).

Ce produit thérapeutique est aussi susceptible de réduire le taux de cholestérol dans le sang. Il l'emploi dans les tumeurs des parties génitales et leur induration, sous forme de cataplasme (**Abdul-Afiq et al, 2013**).

#### Utilisation en cosmétique

Les noyaux carbonisés sont ajoutés à l'encre solide, utilisé comme dentifrice par les Chinois, également comme fard pour les yeux en raison de ses propriétés de nettoyage reconnu,

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

mélanger avec du « Khôl », active la croissance des cils et améliore l'ophtalmie, pour les cheveux. Actuellement la poudre des noyaux de dattes est utilisée en environnement comme un agent de détoxification et de dépollution (Gasmi, 2012). Les noyaux sont employées aussi dans l'alimentation des animaux (Golshan et al, 2017; Al-Farsi et Lee, 2011).

D'autres usages médicaux des dattes sont regroupés dans le tableau 2.

**Tableau 02.** Usage médicinal des dattes (Benchelah et Maka 2006).

Dattes pliées dans de l'eau	Les dattes soignent les hémorroïdes, les constipations et aussi l'ictère.
Sirop de dattes très concentré	Le robb est très employé dans les affections broncho-pulmonaires, d'autre part, il apaise et endort les enfants. Il sert de calmant pour les maladies nerveuses.
Fruit	Il est énergétique. Il est recommandé aux femmes qui allaitent et permet de lutter contre l'anémie et les déminéralisations. Souvent la mère glisse furtivement dans le creux de la main de sa fille sur le point d'accoucher une poignée de dattes. On signale dans certaines régions l'efficacité des dattes contre les piqûres de scorpion et les morsures de serpent, traitement externe que l'on associe à un traitement interne consistant à manger le fruit.
Pulpe de datte	Les lèvres des nouveau-nés étaient frottées avec un peu de pulpe pour les vivifier.
Dattes vertes	Tonifiantes, elles soignent les troubles intestinaux comme les diarrhées et ont la réputation d'être aphrodisiaques.
noyaux	Les hommes ont eu recours à ce complément alimentaire en périodes difficiles. Torréfiés, ils ont aussi servi de café.
Noyaux broyés	La poudre stimule le cuir chevelu. De même, la poudre des noyaux carbonisés était utilisée comme fard pour les yeux.

# Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

## 2. Globule Rouge

### 2.1. Définition

Les globules rouges, hématies ou érythrocytes sont des petites cellules, de forme discoïdale biconcave, les plus nombreuses du sang  $5.10^6$  par  $\text{mm}^3$  dans le sang d'un être humain. Les hématies sont dépourvues de noyau, ce qui limite leur survie à 120 jours. A l'état normal, tous les globules rouges ont une même forme, même diamètre et même coloration, toutes modifications de ces critères traduits un phénomène pathologique.

### 2.2. Membrane de globule rouge

La membrane des érythrocytes a servi pendant de nombreuses années comme un modèle simplifié des membranes plasmiques des mammifères. Elle est constituée essentiellement de lipides et de protéines qui sont liés par des interactions non covalentes, telles que : interaction de Van der Waals, liaisons hydrogènes, forces électrostatiques et hydrophobes pour former une structure complexe (**Franco et Low, 2010 ; Manaargadoo-Catin et al, 2016**).

### 2.3. Hémolysé

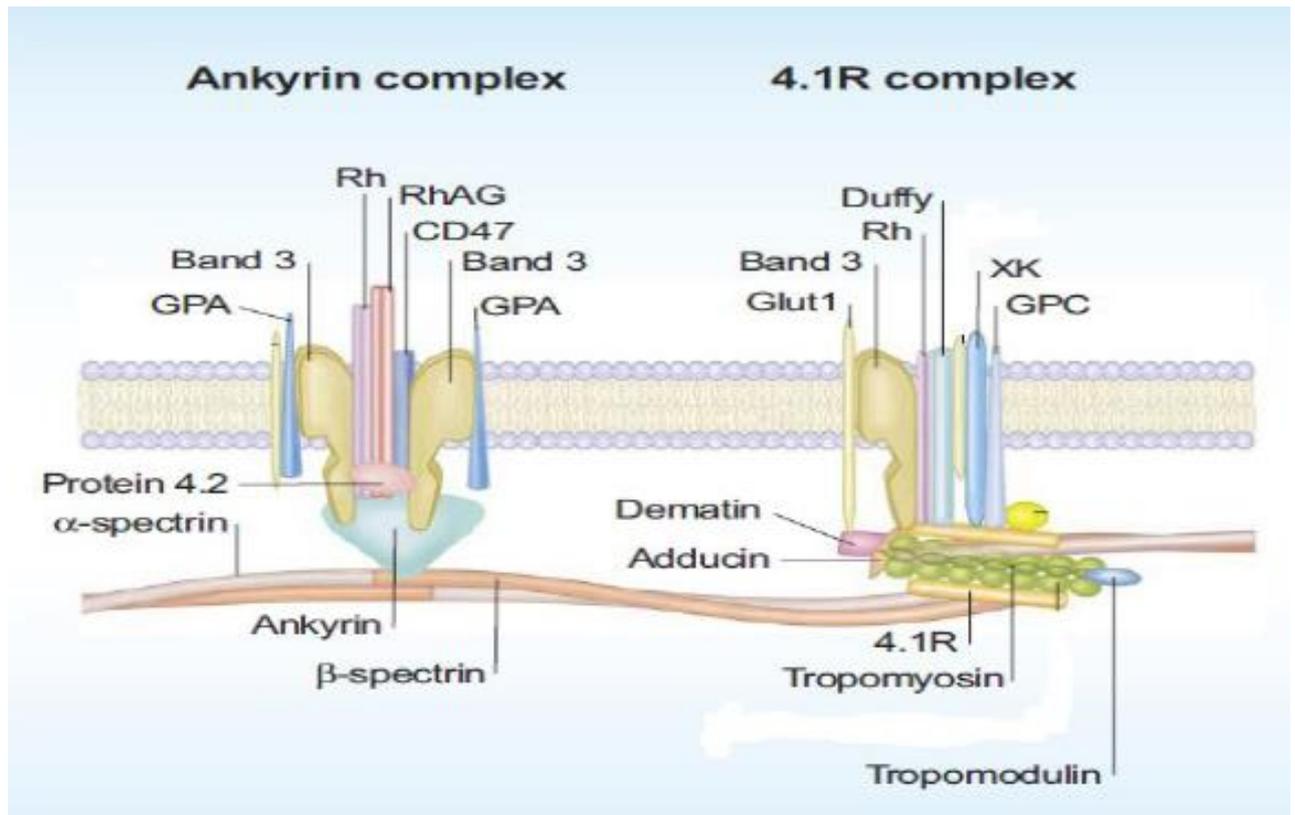
L'hémolyse présente la répartition ou la perturbation de l'intégrité de la membrane des globules rouges. Par définition c'est la rupture de la membrane des globules rouges, provoquant la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant.

L'hémoglobine libre dans le surnageant peut être mesurée par spectrophotométrie et est exprimée sous la forme d'un pourcentage de fraction hémolysée. Cette mesure est simple, standardisée et reproductible (**Roussel et al, 2020**).

### 2.4.Mécanisme d'hémolyse

Mécanisme de lyse osmotique est similaire à l'hémolyse dans les médias hypotoniques, qui est principalement expliquée par le changement conformationnel ou associatif des protéines membranaires conduisant à la formation de trous et l'hémolyse ultérieure. Au cours de l'hémolyse en milieu hypotonique, les érythrocytes se gonflent et la réorganisation des composants de la membrane se produit avec l'association des ankyrines et la Band 3 ainsi que la modification du rapport spectrine dimère / tétramère. L'intervention de la protéine bande 3 est spécifique de la membrane érythrocytaire par rapport à d'autres cellules.

L'augmentation de la mobilité latérale et de rotation de la bande 3 conduit à la formation d'anneau créant des trous membranaires d'une dimension d'environ 3 pm. Ces pores permettent la diffusion de l'hémoglobine dans le milieu extracellulaire (**Manaargadoo-Catin et al, 2016**). (figure 01) .



**Figure 01.** Organisation structurale de la membrane érythrocytaire humaine (Mohandas et Gallagher, 2008).

### 3. Activité antioxydante

#### 3.1. Stress oxydant

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou des espèces réactives de l'azote (RNS) et les systèmes de défense antioxydants en faveur des premiers, ce qui produit des dégâts tissulaires à travers les modifications oxydatives des biomolécules cellulaires.

#### 3.2. Origine du stress oxydant

La pollution, le tabagisme, l'alcoolisme, la prise des contraceptifs, l'exposition prolongée au soleil ou à des radiations, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont des sources de production des ROS. Une surproduction de ROS entraîne un déséquilibre dans la balance entre agents oxydants et agents antioxydants au sein des cellules et des tissus. Une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants exogènes nécessaires (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydante se qui es insuffisant pour empêcher les dégâts cellulaires qui peuvent causer les radicaux libres de l'oxygène (Valko *et al*, 2007).

# Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

## 3.3. Définition d'un radical libre

Un radical libre est définie comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés, cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque une molécule stable, la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre.

## 3.4. Pathologie liée aux stress oxydants

La notion de « stress oxydant » et de « radicaux libres » est de plus en plus utilisée pour expliquer différentes atteintes pathologiques. Peuvent provoquer des dommages aux macromolécules biologiques (ADN, protéines, phospholipides membranaires, etc.), et peuvent entraîner la mort cellulaire, qui joue un rôle important dans de nombreuses pathologies, incluant : la cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré (Favier, 2006 ; Pisoschi et Pop, 2015). Le stress oxydant serait également impliqué dans les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer et parkinson où la mort neuronale pourrait être liée à un phénomène d'apoptose impliquant les radicaux libres.

Enfin, les radicaux libres semblent également jouer un rôle non négligeable dans la cancérogenèse. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux libres (Favier, 2006).

## 3.5. Définition d'un antioxydant

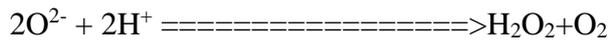
Un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration par rapport à celle de substrat oxydable, qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules. Ces antioxydants peuvent avoir plusieurs origines, ils peuvent être produits dans l'organisme ou apportés par l'alimentation ou bien sont issus d'une synthèse chimique (Karou *et al*, 2005).

## 3.6. Antioxydant endogène

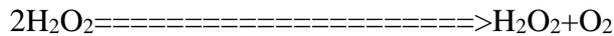
L'organisme possède ses propres mécanismes de défense. Il s'agit principalement d'enzymes cytosoliques (superoxyde dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxydase et le complexe enzymatique de la thioredoxine). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires par les réactions suivantes (Favier 2006) :

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

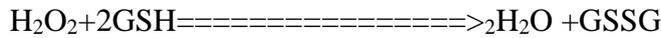
---



Superoxyde dismutase



Catalase



Glutathion peroxydase

### 3.7. Antioxydant exogène

Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau cette molécule d'antioxydant doit être régénérée par d'autre système. Les antioxydants exogènes incluent : la vitamine C, vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, le flavonoïde et les composée phénolique (**Dacosta, 2003**).

## 4. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate.

Celles de l'acide shikimique conduisant après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs dérivés et celles de l'acétate conduisant aux poly-cétoesters ou polyacétates (malonate). La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire (**Chira et al, 2008**).

### 4.1. Les acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués.

#### 4.1.1. Acides hydroxybenzoïques

Ces composés répondent à une représentation structurale de type (C6-C1), dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (tableau 3).

#### 4.1.2. Acides hydroxycinnamiques

Ces composés répondent à une représentation structurale de type (C6-C3), dont les plus abondants sont les acides caféique et coumarique (tableau 3). Ils sont à l'origine des voies de biosynthèse de nombreuses substances telles que les lignines, les flavonoïdes et les stilbènes.

# Chapitre I : Synthèse bibliographique

**Tableau 3.** Structure des dérivés de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique.

Les acides benzoïques	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Les acides cinnamiques	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Ac. benzoïque	H	H	H	H	Ac. cinnamique	H	H	H	H
Ac. salicylique	OH	H	H	H	Ac. <i>o</i> -coumarique	OH	H	H	H
Ac. <i>p</i> -hydroxy- benzoïque	H	H	OH	H	Ac. <i>m</i> -coumarique	H	OH	H	H
Ac. gallique	H	OH	OH	OH	Ac. <i>p</i> -coumarique	H	H	OH	H
Ac. protocatéchique	H	OH	OH	H	Ac. caféique	H	OH	OH	H

## 4.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques, comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones (Figure 2). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies (Chira et al, 2008).

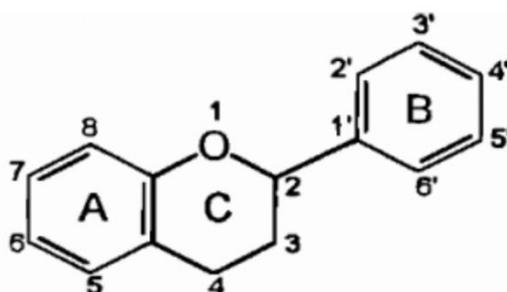


Figure 2. Structure générale de flavonoïdes.

### 4.2.1. Flavones et flavonols

Ces flavonoïdes possèdent généralement trois hydroxyles phénoliques en C5, C7 et C4 et une double liaison C2-C3. Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement OH en position C3 (figure 3). Ces composés peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose, D-galactose, L-rhamnose et L-arabinose (Andersen et Markham, 2006).

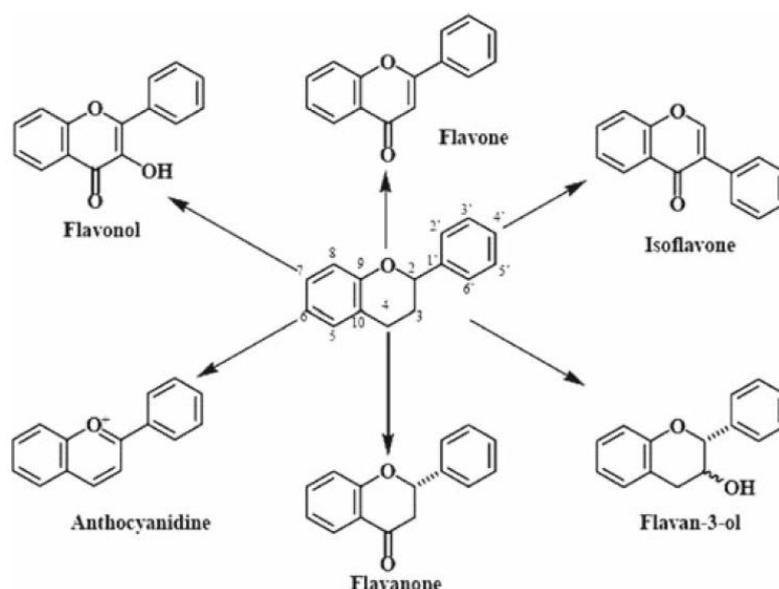


Figure 3. Structure de base des principaux flavonoïdes.

### 4.2.2. Flavanones et flavanonols

Les flavanones et les flavanonols sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3 et par la présence d'un carbone asymétrique en C2, voire en C3 (figure 3). Les variations structurales sont de même nature que celles décrites pour les flavones et flavonols.

Les flavanonols (encore appelés dihydroflavonols) se distinguent des flavanones par la présence d'un groupement OH en position C3. Sur la figure 9 sont représentés des exemples de molécules appartenant à ce groupe de flavonoïdes (Andersen et Markham, 2006).

### 4.2.3. Les flavan-3-ols

Les flavan-3-ols sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatéchine, jusqu'aux oligomères et polymères de proanthocyanidines (Chira *et al*, 2008).

Les flavan-3-ols (appelés aussi les catéchines) possèdent deux atomes asymétriques en C2 et C3 (figure 3). Chaque composé peut alors exister sous forme de quatre stéréoisomères optiquement actifs: (+)-catéchine, (+)-épicatéchine, (-)-catéchine, (-)-épicatéchine. Le premier et le quatrième sont les formes les plus répandues (Andersen et Markham, 2006).

### 4.2.4. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium) porteur de 3 cycles aromatiques conjugués. Ce sont des pigments, très répandus dans les fleurs et les fruits. Dans la nature, ces pigments n'existent pas sous forme aglycone, mais sous forme d'hétérosides (Andersen et Markham, 2006).

# Chapitre I : Synthèse bibliographique

## 4.3. Les tanins

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse, car il n'y a pas de structure chimique de base. Ils sont des molécules de haut poids moléculaire, fortement hydroxylé et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives.

Les tanins sont divisés en deux groupes principaux d'après leurs structures et leurs propriétés, les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Chaouèche 2014**).

### 4.3.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysés, essentiellement localisés dans les dicotylédones des angiospermes, sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre qui est très généralement le glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol qui est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxy diphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins éllagiques. Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.

### 4.3.2. Tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidine, forment le groupe le plus important.

Ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est voisine de celle des Flavonoïdes. Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines) (Figure 4).

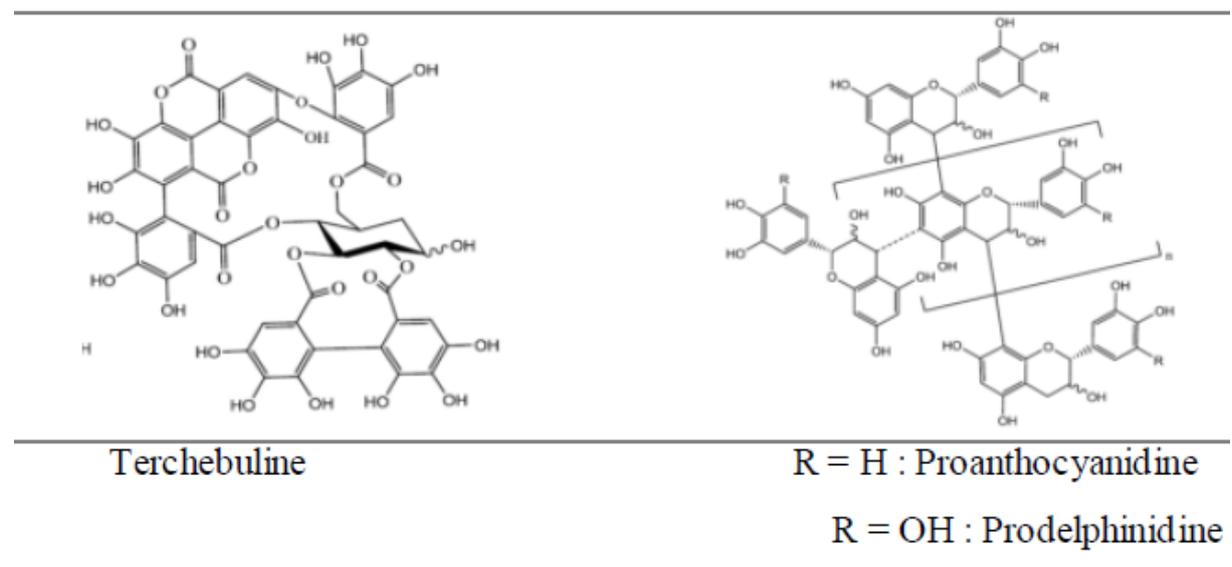


Figure 4. Structure de tanin hydrolysable et tanin condensé.

---

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

## Chapitre II : matériels et méthodes

---

### 1. Matériel végétal (Noyaux de dattes)

Les dattes utilisées (Ajwa) sont collectées de palmeraies de la wilaya de Biskra. Les noyaux sont récupérés, lavés, séchés puis broyés en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre est de couleur marron et elle est conservée à l'abri d'humidité dans des flacons propres en verre bien fermés.



**Photo 04.** Noyaux de dattes broyés.

## 2. Etude phytochimique

### 2.1. Extraction par soxhlet

#### 2.1.1. Extraction de la matière grasse

Le solvant utilisé est l'hexane, on a utilisé 20g de la poudre de noyaux de dattes dans une cartouche, avec 450ml de l'hexane. L'extraction a été faite à 45°C par soxhlet durant 2 heures.

#### 2.1.2. Extraction des composés phénoliques

Après l'extraction de la matière grasse, on a gardé la même cartouche et on a changé que le ballon. L'extraction a été faite à 60°C durant 2 heures, avec un mélange de trois solvants en proportion de 150 ml de chaque solvant (méthanol/ éthanol/ acétone) (**Kévin de Albuquerque Mendes et al., 2019**) .

L'évaporation des solvants a été faite par évaporateur à 66 °C, jusqu'à l'élimination totale des solvants.

## Chapitre II : matériels et méthodes

---

### 2.1.3. Calcul des rendements en extraits secs

On a déterminé le rendement (Rdt) des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant:

$$\text{Rdt \%} = \frac{P1-P2}{P3} \times 100$$

P1: Poids du ballon après évaporation.

P2: Poids du ballon vide.

P3: Poids de la matière végétale sèche de départ

### 2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits ou fractions a été effectué par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Li et al., 2007**).

#### **Principe :**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$ ) de couleur jaune. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) et de molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits (**Li et al., 2007**).

#### **Mode opératoire :**

- solubiliser une prise de 1 mg de chaque extrait ou fraction dans 1 ml de solvant (méthanol ou eau distillée) ;
- prendre 100  $\mu\text{l}$  de chaque dilution d'extrait ou fraction;
- ajouter 2 ml de la solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 2%;
- agiter et laisser reposer pendant 5min;
- ajouter 100  $\mu\text{l}$  du réactif de Folin-Ciocalteu 1 N;
- incuber le mélange dans l'obscurité pendant 30 minutes;
- mesurer l'absorbance de ces solutions avec un spectrophotomètre à 750 nm contre un blanc.
- effectuer les mêmes opérations pour la gamme d'étalonnage de l'acide gallique à des concentrations de 62,5 à 500  $\mu\text{g/ml}$  (Tableau04).

## Chapitre II : matériels et méthodes

**Tableau04.** Protocole de dosage des polyphénols totaux.

	Gamme d'étalonnage				Extrait
Tubes	1	2	2	4	Extrait
[acide gallique] µg/ml	62.5	125	250	500	–
Acide gallique µl	100	100	100	100	–
Extrait µl	–	–	–	–	100
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (2%) ml	2	2	2	2	2
Incubation pendant 5 min à température ambiante					
Folin-Ciocalteu 1N µl	100	100	100	100	100
Incubation pendant 30 min à l'obscurité					
Lecture à 700 nm					

### ***Expression des résultats :***

Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits ou fractions ont été calculées à partir de l'équation d'une courbe d'étalonnage de régression linéaire d'acide gallique ( $y=0,0018x$  ;  $R^2=0,996$ ). Les résultats ont été exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g EAG/ mg ES}$ ).

### **2.3.Dosage des flavonoïdes**

#### ***Principe :***

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de Zhishen et al. (1999) utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) dans un milieu alcalin. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium. Il forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui devient rose en présence de la soude ( $\text{NaOH}$ ) qui absorbe à 510 nm. La couleur est proportionnelle aux teneurs en flavonoïdes présentes dans les extraits ou fractions.

#### ***Mode opératoire :***

- solubiliser 1 mg de chaque extrait ou fraction végétale dans 1 ml de solvant (méthanol ou eau distillée) ;
- Prendre 250 µl de chaque dilution d'extrait ou fraction;
- additionner 1 ml d'eau distillée ;

## Chapitre II : matériels et méthodes

- ajouter 75 µl de nitrite de sodium NaNO<sub>2</sub> à 15%;
- incuber le mélange pendant 6 min à température ambiante;
- ajouter 75 µl de trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> à 10%;
- laisser reposer 6 min dans une température ambiante;
- ajouter 1 ml de soude Na OH à 4%;
- additionner 100 µl d'eau distillée et agiter afin d'homogénéiser le contenu ;
- lire l'absorbance de la solution à 510 nm contre un blanc ;
- en parallèle, réaliser une gamme d'étalonnage de la catéchine (62.5-500 µg/ml) dans les mêmes conditions opératoires (Tableau 5).

**Tableau 05.** Protocole de dosage des flavonoïdes.

	Gamme d'étalonnage				Extrait
Tubes	1	2	3	4	Extrait
[Catéchine] µg/ml	62.5	125	250	500	-
Catéchine µl	250	250	250	250	-
Extrait µl	-	-	-	-	250
Eau distillée ml	1	1	1	1	1
NaNO <sub>2</sub> 15% µl	75	75	75	75	75
Incubation pendant 6 min à température ambiante					
AlCl <sub>3</sub> 10% µl	75	75	75	75	75
Incubation pendant 5min à température ambiante					
Na OH 4% ml	1	1	1	1	1
Compléter les tubes à 2500 µl par eau distillée					
Incubation 15 min à l'obscurité puis lecture à 510 nm					

### **Expression des résultats :**

Les teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits ou fractions ont été calculées à partir de l'équation d'une courbe d'étalonnage de régression linéaire de la catéchine ( $y=0,0031x$  ;  $R^2=0,998$ ). Les teneurs en flavonoïdes totaux des échantillons étudiés ont été exprimées en microgramme équivalent de la catéchine par milligramme extrait sec (µg EC/mg ES).

## Chapitre II : matériels et méthodes

### 2.4. Dosage des tannins condensés

#### *Principe :*

En présence d'acide sulfurique, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (Sun et al., 1998).

#### *Mode opératoire :*

- solubiliser 1 mg de chaque extrait ou fraction végétale dans 1 ml de solvant (méthanol ou eau distillée) ;
- Prendre 50 µl de chaque dilution d'extrait ou fraction;
- additionner 1.5ml de vanilline a 4% ;
- ajouter 750 µl de l'HCL ;
- incuber le mélange pendant 15 min à température ambiante;
- lire l'absorbance de la solution à 500 nm contre un blanc ;
- en parallèle, réaliser une gamme d'étalonnage de la catéchine (62.5-500 µg/ml) dans les mêmes conditions opératoires (Tableau 06).

**Tableau 06.** Protocole de dosage des tanins :

Tubes	Gamme d'étalonnage				Extrait
	1	2	3	4	Extrait
[Catéchine] µg/ml	62.5	125	250	500	-
Catéchine ml	1	1	1	1	-
Extrait µl	-	-	-	-	1
Vanilline 4% µl	1500	1500	1500	1500	1500
HCL µl	750	750	750	750	750
Incubation pendant 15 min à température ambiante					
Lecture à 500 nm					

#### *Expression des résultats :*

Les teneurs en tanins dans les extraits ont été calculées à partir de l'équation d'une courbe d'étalonnage de régression linéaire de la catéchine ( $y=0,0006x$  ;  $R^2 =0,992$ ).

Les teneurs en tanins condensés sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC.g-1 MS).

## Chapitre II : matériels et méthodes

### 3. Activité biologique :

#### 3.1.Capacité antioxydante totale

##### *Principe :*

La capacité antioxydante totale ou l'activité réductrice du molybdate a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène proposée par Prieto et al. (1999). Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de molybdène présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'antioxydant pour former un complexe vert de phosphate dans un milieu acide.

##### *Mode opératoire :*

- Préparer le réactif CAT en mélangeant trois volumes égaux de trois solutions : 0,6 N de l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), 28 mM de phosphate de sodium ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) et 4 mM de molybdate d'ammonium  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  ;
- ajouter 1 ml de réactif CAT sur 100  $\mu\text{l}$  d'extrait ;
- incuber les tubes à 95 °C pendant 90 min ;
- après refroidissement, mesurer l'absorbance des solutions à 695 nm ;
- préparer la gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique (31-500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dans les mêmes conditions expérimentales (Tableau 07).

**Tableau07.** Mode opératoire pour mesurer la capacité antioxydante totale

Tubes	Gamme d'étalonnage					Extrait
	1	2	3	4	5	Extrait
[Acide ascorbique] $\mu\text{g}/\text{ml}$	31	62	125	250	500	-
Acide ascorbique $\mu\text{l}$	100	100	100	100	100	-
Extrait $\mu\text{l}$	-	-	-	-	-	100
Réactif CAT $\mu\text{l}$	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Incubation pendant 90 min à 95%						
Mesure de l'absorbance à 695 nm						

##### *Expression des résultats :*

La capacité antioxydante totale a été exprimée en microgramme équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g}$  EAA/mg ES) utilisant l'équation de la gamme d'étalonnage d'acide ascorbique ( $y=0,0028x$ ;  $R^2=0,994$ ).

### 3.2. Test de cytotoxicité

Le test d'hémolyse a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de l'extrait brut de noyaux des dattes à une concentration de 20 mg/ml d'extrait.

#### **Principe :**

Pour tester l'effet hémolytique *in vitro*, nous avons utilisé la méthode de Bulmus et al. (2013). Le principe consiste à mettre en suspension des érythrocytes humains avec différentes concentrations d'extraits dans une solution isotonique. Puis, mesurer la fuite d'hémoglobine qui reflète l'éclatement des globules rouges. L'apparition de la couleur rouge du sang dans le surnageant traduit la toxicité de l'extrait. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir hémolytique des extraits ou fractions testées.

#### **Mode opératoire :**

- centrifuger du sang prélevé d'un sujet sain sur des tubes héparines à 3000 tours/ 10 min;
- après élimination du surnageant, laver le culot 3 fois avec la solution tampon phosphate saline (PBS) (pH 7,4) ;
- reconstitué sous forme de suspension de 10% (v/v) (GRh) avec une solution tampon phosphate saline (PBS) (pH 7,4) ;
- préparer 5 concentrations de dilution d'extrait dans le PBS : 20, 10, 5, 2,5 et 1,25 mg/ml ;
- ajouter 1.6 ml de chaque dilution d'extrait sur 0.4 ml de la solution érythrocytaire 10% ;
- incuber les tubes à 37 °C pendant 30 min ;
- après centrifugation (3000 tours/ 10min), utiliser le surnageant pour mesurer la fuite de l'hémoglobine intracellulaire à 560 nm ;
- préparer un contrôle positif (hémolyse totale) dans les mêmes conditions opératoires par la mise en suspension des globules rouges avec l'eau distillée.
- utiliser le PBS avec la solution érythrocytaire comme contrôle négatif ;
- préparer le dosage de l'acide ascorbique (20-0,625mg/ml) dans les mêmes conditions expérimentales.

### *Expression des résultats :*

Pour chaque échantillon, les pourcentages des taux d'hémolyse ont été déterminés par l'équation suivante : Taux d'hémolyse (%) = (A Extrait / A Contrôle positif) x 100

(A : Absorbance)

### **3.3.Evaluation de l'activité anti-hémolytique**

#### *Principe :*

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de l'extrait à empêcher l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Sadique et al., 1989 ; Oyedapo et al., 2010).

#### *Mode opératoire :*

- centrifuger du sang prélevé d'un sujet sain sur des tubes héparines à 3000 tours/ 10 min;
- après élimination du surnageant, laver le culot 3 fois avec la solution tampon phosphate saline (PBS) (pH 7,4) ;
- reconstitué sous forme de suspension de 10% (v /v) (GRh) avec une solution tampon phosphate saline (PBS) (pH 7,4) ;
- préparer 5 concentrations de dilution d'extrait dans le PBS : 18.75, 37.5, 75 ,150 et 300 µg/ml ;
- ajouté 0.5ml de l'extrait de chaque concentration avec 1.5 ml du PBS (pH 7.4)
- additionné 2ml d'une solution hypo-saline (NaCl 0.36 %) ;
- incuber les tubes à 37 °C pendant 20 min ;
- après l'incubation, ajouter 0.5 ml de la suspension de GRh (10%) ;
- incuber les tubes à 56°C pendant 60 min ;
- refroidissement des tubes à l'eau courante ;
- après centrifugation (2500 tours/ 5min), utiliser le surnageant pour mesurer la fuite de l'hémoglobine intracellulaire à 560 nm ;
- préparer un contrôle dans les mêmes conditions opératoires en remplaçant l'extrait avec 0.5 ml du tampon phosphate saline PBS ;
- préparer le dosage de l'acide gallique (18.75-300 µg/ml) dans les mêmes conditions expérimentales.

### *Expression des résultats :*

Le pourcentage de stabilité membranaire a été estimé à partir de l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = (A_c - A_t / A_c) \times 100$$

$A_c$  : Absorbance du contrôle.

$A_t$  : Absorbance du test.

---

## **Chapitre III : Résultats et interprétation**

## Chapitre III : Résultats et interprétation

---

### 1. Etude phytochimique

#### 1.1. Rendements de l'extraction

##### 1.1.1. Rendements en matière grasse

L'extraction de la matière grasse à partir des noyaux de dattes a été faite par l'hexane. Le solvant a été sélectionné pour ses propriétés apolaires qui lui confèrent une grande affinité pour les lipides.

Pour 20 g de matière végétale secs, l'extrait obtenu a un aspect huileux d'une couleur jaune foncé avec un rendement de 7.79%.

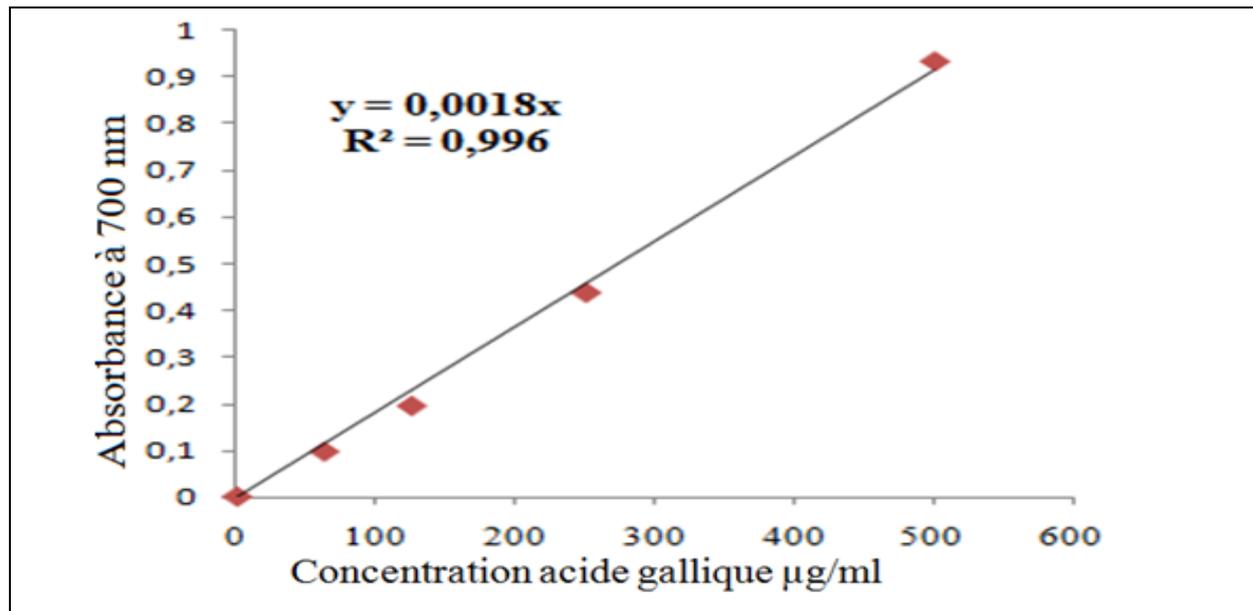
##### 1.1.2. Rendements en composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques et d'après l'étude de (Kélvyn de Albuquerque Mendes et al., 2019) a montré que le mélange méthanol, acétone et éthanol est le meilleur pour l'extraction des composés phénolique.

Pour 20g de matière végétale secs, l'extrait obtenu à un aspect pâteux d'une couleur marron foncé avec un rendement de 10.01%.

#### 1.2. Teneurs en composés phénoliques

L'estimation quantitative des composés phénoliques a été effectuée par la méthode spectrophotométrique. La teneur en composés phénoliques a été déterminée par le réactif de Folin-Ciocalteu à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme témoin (Figure.05). Elle a été exprimée en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g EAG/ mg ES}$ ).



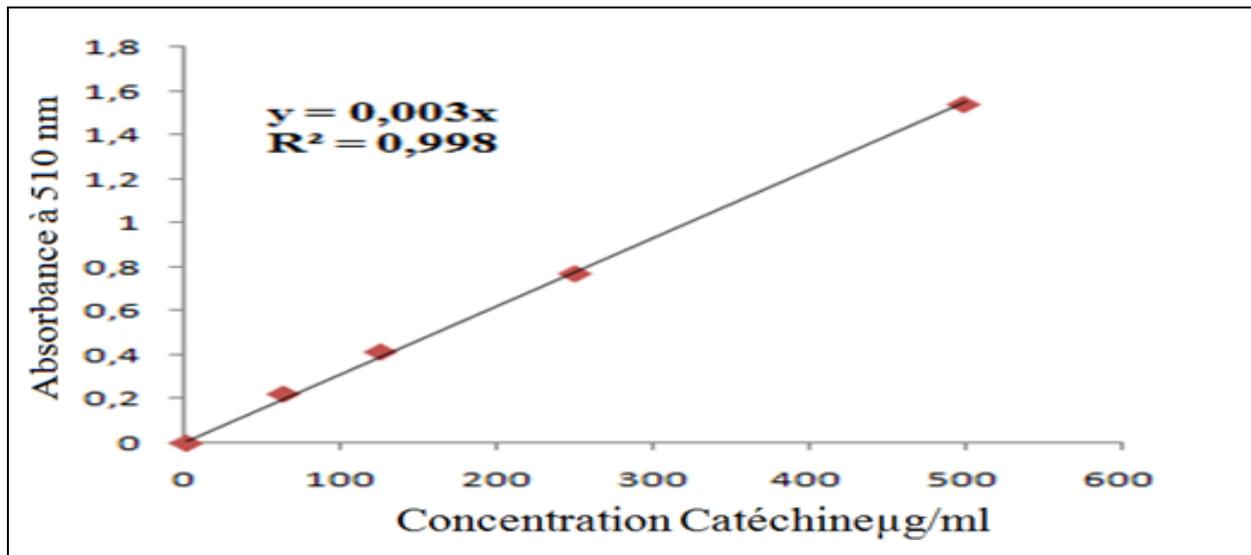
**Figure .05.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Le résultat obtenu a démontré que l'extrait préparé de noyaux de *Phoenix dactylifera* a renfermé une teneur considérable en composés phénoliques 77 .115 µg EAG/ mg ES.

### 1.3. Teneurs en flavonoïdes

L'estimation quantitative des flavonoïdes a été effectuée par une méthode spectrophotométrique. Il a été quantifié en milieu alcalin par la méthode du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  utilisant la catéchine comme témoin (Figure.06). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec (µg EC/ mg ES).

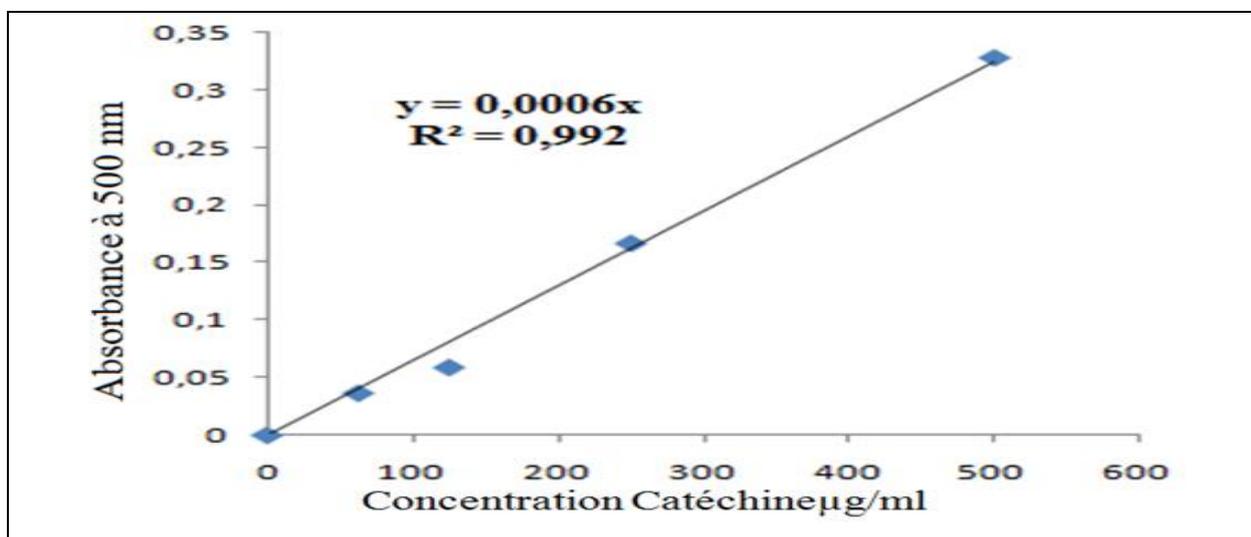
Ces résultats montrent que l'extrait de noyaux de dattes contient des teneurs en flavonoïdes égale à 28.10 µg EC/ mg ES.



**Figure.06.** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

### 1.4.teneurs en tanins condensés

La quantification des tanins a été faite par la méthode spectrophotométrique, le taux en tanins en extrait de noyaux des dattes est estimé selon la méthode de vanilline en utilisant la catéchine comme témoin (figure.07). La teneur en tanins a été exprimée en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec ( $\mu\text{g EC/ mg ES}$ ).



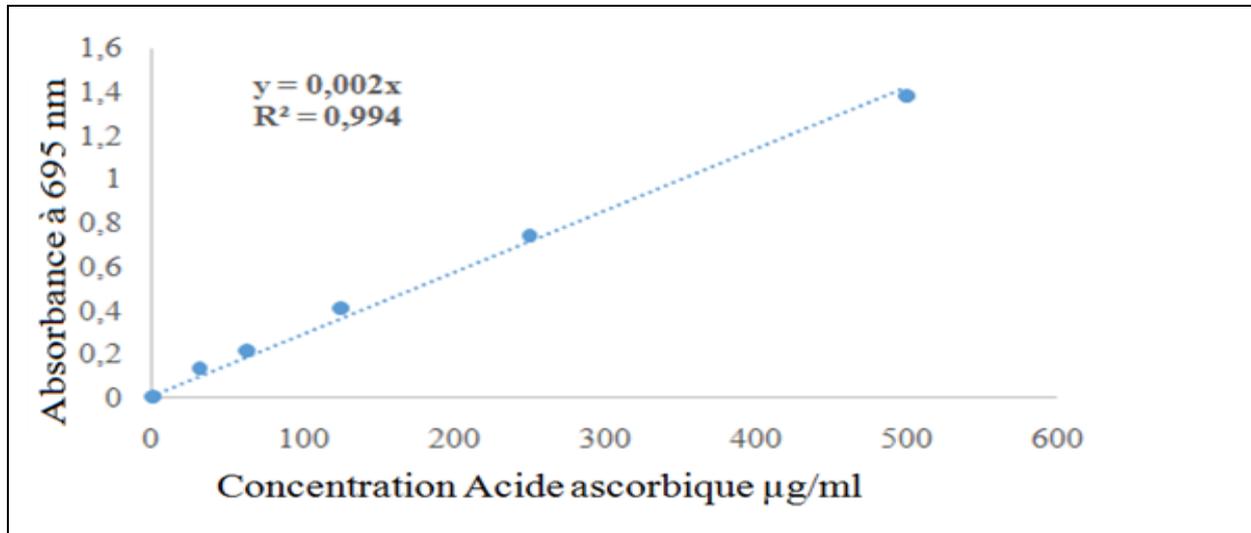
**Figure.07.** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de noyaux de dattes contient une teneur considérable en tanins condensés égale à  $42.063 \mu\text{g EC/ mg ES}$ .

## Chapitre III : Résultats et interprétation

### 2. Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale de l'extrait de noyaux de *Phoenix dactylifera* a été exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique à partir d'une courbe d'étalonnage ( $y=0,002x$ ;  $R^2=0,994$ ) (Figure.08).



**Figure.08.** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

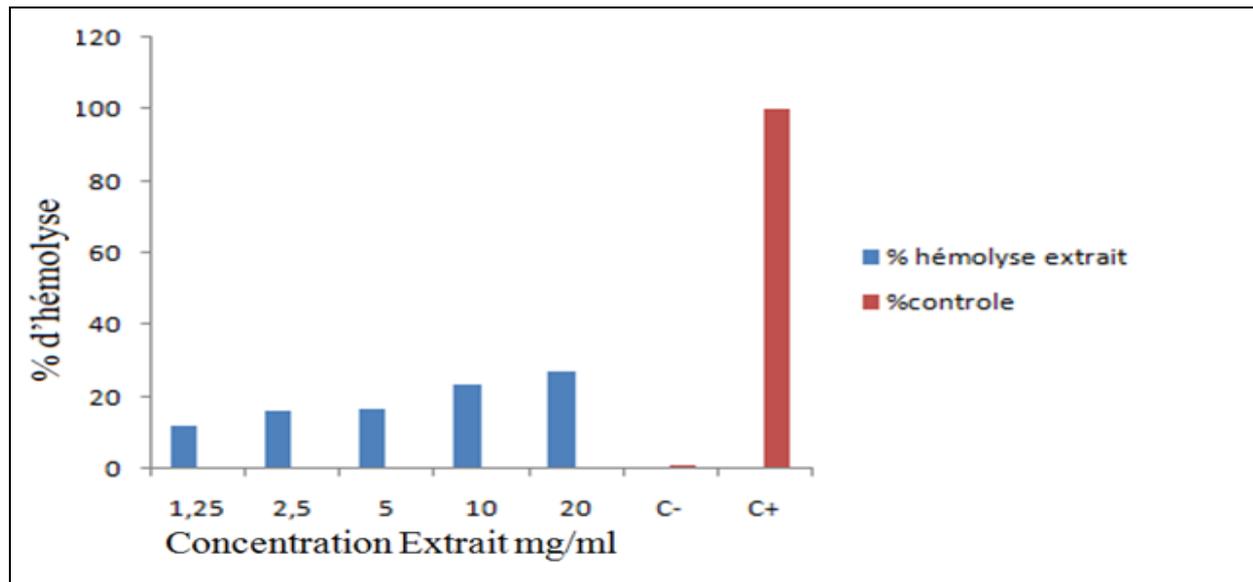
Le résultat obtenu indique que l'extrait de noyaux de *Phoenix dactylifera* L a un pouvoir antioxydant important égale à 28.4 µg EAA/mg ES.

### 3. Etudes biologiques:

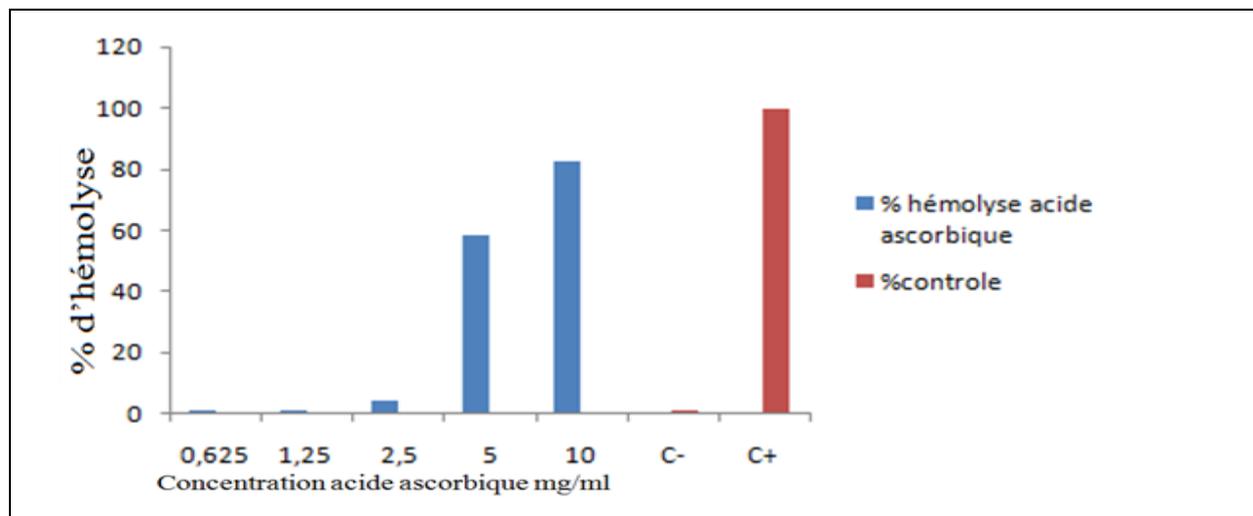
#### 3.1. Etude de cytotoxicité :

La toxicité d'une substance au niveau de l'organisme dépend de la nature de la substance, de la dose et de la durée d'exposition. Dans cette partie, nous avons recherché et évalué la toxicité de l'extrait de noyaux des dattes sur les globules rouges humaines.

Les taux d'hémolyse ont été mesurés après 30 minutes d'incubation des cellules érythrocytaires à 37 °C dans une solution tampon à pH  $7,4 \pm 0,2$  en présence de différentes concentrations d'extraits et d'acide ascorbique (figures.09,10).



**Figure.09.** pourcentage d'hémolyse en présence de différentes concentrations de l'extrait.



**Figure.10.** Pourcentage d'hémolyse en présence de différentes concentrations de l'acide ascorbique

Nous remarquons que le taux d'hémolyse dépend de la concentration de l'extrait, à des hautes concentrations nous avons noté un taux d'hémolyse important par rapport aux basses concentrations. Nous avons noté à une concentration de 20 mg/ml d'extrait, 26,93% d'hémolyse et 82,5% pour 10 mg/ml de l'acide ascorbique. A des hautes concentrations, l'acide ascorbique a présenté un taux d'hémolyse supérieure à celui de l'extrait, mais par contre à des faibles concentrations l'extrait à un taux d'hémolyse un peu plus supérieure à celui de l'acide ascorbique.

## Chapitre III : Résultats et interprétation

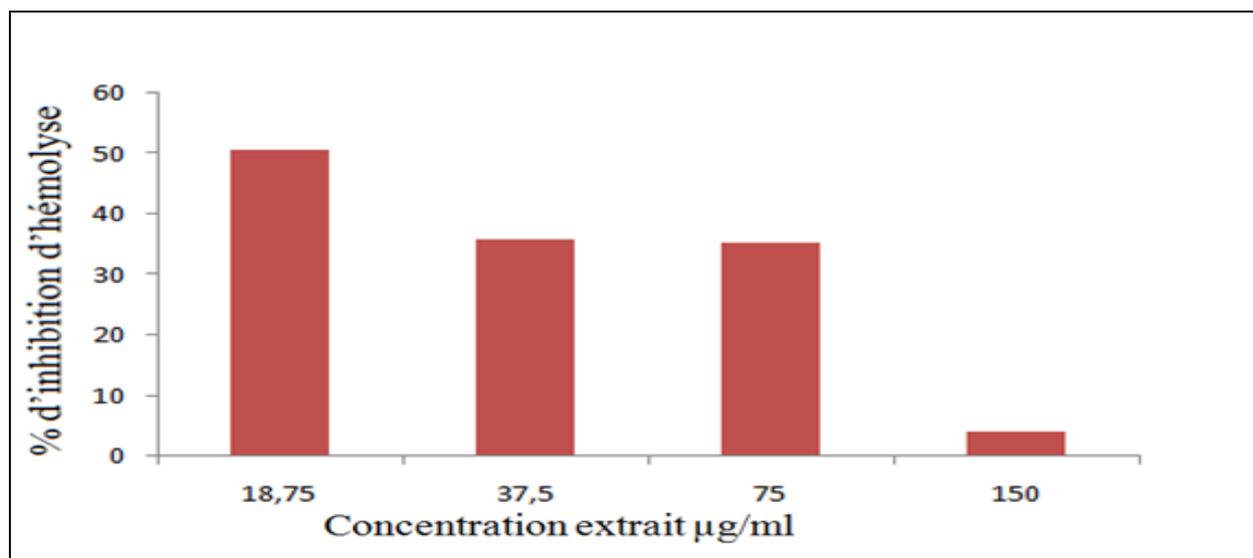
Les pourcentages d'hémolyse d'extrait de noyaux des dattes restent négligeables par rapport au contrôle positif qui représente 100% d'hémolyse, donc on peut dire que les noyaux de *Phoenix dactylifera* L ne sont pas toxiques pour la consommation et ne représente pas un véritable risque sur les érythrocytes.

### 3.2. Etude de l'activité anti-hémolytique :

Les érythrocytes sont connus comme les cibles principales du stress oxydatif en raison de la présentation en forte concentration des acides gras polyinsaturés dans leur membrane et aussi les réactions d'oxydoréduction d'hémoglobine associées au transport d'oxygène qui sont les promoteurs puissants des espèces réactives de l'oxygène, d'où la nécessité de protection de leurs membranes (Nabavi *et al.*, 2012).

L'étude de l'activité anti-hémolytique réalisée sur les érythrocytes humains nous a permis d'étudier l'effet protecteur de l'extrait de noyaux des dattes contre l'hémolyse induite par une solution hypo-saline (NaCl 0.36%). L'activité anti-hémolytique d'un extrait se mesure par la capacité des hématies à résister à l'hémolyse. Elle est exprimée en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse.

Les résultats présentés sous forme des histogrammes (figure 11) résument l'évaluation de l'activité anti-hémolytique du fruit du palmier dattier sous différentes formes d'extraits



**Figure.11.** Pourcentage d'inhibition d'hémolyse induite par différentes concentrations d'extrait.

## Chapitre III : Résultats et interprétation

---

Ces résultats montrent que les noyaux de dattes sont efficaces dans la protection des érythrocytes. L'inhibition de l'hémolyse est très importante à des petites concentrations d'extrait. A 18,75 µg/ml d'extrait, le pourcentage d'inhibition d'hémolyse égale a 50.66%.

Les résultats de la molécule de référence l'acide gallique qu'on a obtenu sont de valeurs négatives.

**Discussion générale**

## Discussion générale

---

*Phoenix dactylifera* L., communément appelé palmier dattier, est une espèce des régions Sahariennes. Ses fruits sont considérés comme un aliment de base pour les populations de ces régions.

Le présent travail a porté sur l'estimation quantitative des composés phénoliques, des flavonoïdes et tanins condensés contenus dans l'extrait de noyaux de dattes. L'évaluation de l'activité antioxydante a été testée par méthode de la capacité antioxydante totale. De plus, le test hémolytique a été utilisé comme un premier rapport de toxicité préliminaire de l'extrait de noyaux de *phenix dactylifera* L. A la fin l'activité anti-hémolytique a été testée pour savoir si l'extrait à un effet protecteur des érythrocytes contre l'hémolyse.

L'extrait de la poudre de noyaux a été préparé par des extractions successives, l'hexane pour éliminer la matière grasse et par un mélange de solvants (méthanol, éthanol et acétone) pour extraire les composés phénoliques. L'huile est extraite à partir d'un échantillon de 20 g de farine de noyaux par un Soxhlet. Le rendement de l'extraction est 7,79%, des études précédentes ont rapporté des résultats différents pour les rendements d'extraction de l'huile pour les noyaux de *Phoenix dactylifera* L, Boussena et Khali en 2016 ont trouvé un rendement de 9,81% pour les noyaux de la variété de Deglat nour, et 6,02% pour la variété Mech degla. Une autre étude a été réalisée en 2007 par Chaira et ses collaborateurs ont trouvé la teneur en huile égale à 10,13% de Deglat nour. La différence de rendement est probablement due à les variétés des dattes, la région de récolte, due aussi à la différence de solvant d'extraction et les conditions expérimentales.

Le rendement de l'extraction des composés phénoliques est 10,015% c'est une valeur importante et supérieure au rendement de la matière grasse. Sayah en 2018 a trouvé un rendement de 36,760 % pour les dattes de Ghars au stade Tmar et c'est une valeur supérieure à la notre. Cela signifie que les dattes sont plus riches en composés phénoliques que les noyaux.

Les fortes teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les plantes médicinales sont associées à leurs activités antioxydantes qui jouent un rôle dans la prévention du développement des maladies causées par le stress oxydatif (Edeas., 2007), et sont aussi associées à leurs activités anti-hémolytiques.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont démontré que l'extrait étudié renferme des teneurs considérables en ces composés. La teneur en polyphénols et

## Discussion générale

---

flavonoïdes est 77,115  $\mu\text{gEAG/mg ES}$  et 28,10  $\mu\text{g EC/mg ES}$  respectivement, alors que Sabeur et Saidi en 2019 ont trouvé une teneur égale à 183,35  $\mu\text{gEAG/mgES}$  de polyphénols et 1,92  $\mu\text{g EC/mg ES}$  de flavonoïdes pour un extrait aqueux de noyaux de dattes variété deglat nour. La différence des teneurs est due au changement de variété de dattes.

La teneur en tanins condensés est 42,063  $\mu\text{g EC/mg ES}$ , cette teneur est supérieure que celle de flavonoïde. Sayah(2018), estime que l'extrait d'acétate d'éthyle des dattes du cultivar Ghars au stade Routab (partie immature) est le plus riche en tanins condensés avec  $45,91 \pm 4,12$  mg équivalent de catéchine/100g de dattes. Il n'y a pas une différence significative de la teneur en tanin condensé dans l'extrait de noyaux de dattes que nous avons étudié et dans l'extrait de datte étudiée par Sayah en 2018.

Les composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques sont considérés comme de grands contributeurs à la capacité antioxydante (Bruneton, 1999)

La capacité antioxydante totale de l'extrait de noyaux de dattes étudiés est mesurée par la méthode de l'acide phosphomolybdique. L'activité antioxydante totale est 28,4  $\mu\text{g}$  équivalent de l'acide ascorbique / mg de l'extrait sec. L'étude de Sayah en 2018 sur l'extrait d'acétate d'éthyle du cultivar Ghars au stade Routab a trouvé que l'activité antioxydante totale est 38,75 mg équivalent de l'acide ascorbique/100g de dattes et 23,73 mg équivalent de l'acide ascorbique/100g de dattes pour l'extrait de n-butanol de la partie immature des dattes du cultivar Ghars au stade Routab.

Le test d'hémolyse a été effectué, dans cette étude, pour évaluer la toxicité de l'extrait de noyaux de dattes Ajwa sur les globules rouges. Les extraits des plantes peuvent affecter positivement les globules rouges en les protégeant contre l'hémolyse. Alors qu'autres peuvent causer des effets néfastes hémolytiques. Dans ce sens, les composés chimiques des plantes possèdent soit un effet hémolytique soit anti-hémolytique sur les érythrocytes humains.

Le plus grand pourcentage d'hémolyse est 26,93 % a été trouvé à une concentration de 20 mg/ml de l'extrait.

Une autre étude *in vivo* a été réalisée sur les souris par Sabeur et Saidi en 2019 a montré que l'observation de comportement des souris traitées par les deux extraits (aqueux et cétonique) de noyaux de dattes variété deglat nour à des différentes doses 300, 1000 et 2000 mg /kg dès les 30 premières minutes suivant l'administration et quotidiennement jusqu'à 14 jours,

## Discussion générale

---

n'a révélé aucun signe de toxicité, de changement comportemental, ni de mortalité. Donc les résultats obtenus affirment que l'extrait étudié est dépourvu d'effet toxique.

A la fin on a réalisé un test de l'activité anti-hémolytique puisque l'extrait n'est pas toxique dont il y a une possibilité d'avoir un effet protecteur des érythrocytes. A une concentration de 18,75 µg/ml, nous avons enregistré 50,66% d'inhibition de l'hémolyse et cela confirme que l'extrait de noyaux de dattes Ajwa a un effet anti-hémolytique.

Une étude a été faite à l'Arabie saoudite par Al-Qarawi et ses collaborateurs en 2004 sur l'extrait de dattes ont démontré clairement que les extraits de chair de dattes et de noyaux de dattes sont des agents efficaces dans le traitement et la prévention de la cytotoxicité hépatique. D'autres études sur les dattes, prouvant que la datte a un effet protecteur des érythrocytes. Belmir et ses collaborateurs en 2016, on prouver que l'ajout d'extrait aqueux protège les globules rouges humains contre la cytotoxicité induite par l'amphotéricine B et ceci est dû probablement à l'effet des flavonoïdes et des polysaccharides présents dans la datte.

## Conclusion et perspectives

---

### Conclusion et perspectives :

La datte constitue depuis l'antiquité un aliment de base, est considérée comme un aliment principal en raison de sa teneur élevée en polysaccharide. La poudre de noyaux de dattes est utilisée en médecine traditionnelle comme un remède pour traiter les maladies du foie, le diabète et les troubles gastro-intestinaux. Aujourd'hui plusieurs travaux investiguent de nouvelles approches thérapeutiques de noyaux de datte *Phoenix dactylifera* L, ce qui fait partie de l'objectif principal de notre étude.

L'analyse quantitative a révélé la richesse de l'extrait préparé en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés. L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de l'acide phosphomolybdique montre que l'extrait de noyaux possède une activité antioxydante totale importante. Ainsi, l'extrait a démontré des faibles taux d'hémolyse. L'étude *in vitro* de l'activité anti-hémolytique des noyaux de dattes par inhibition de l'hémolyse des hématies révèle que l'extrait a un effet anti-hémolytique important.

La présente étude a révélé que les composés présents dans les noyaux de dattes possèdent une activité antioxydante et anti-hémolytique. Par conséquent, l'introduction de noyaux de dattes dans l'alimentation humaine peut prévenir l'organisme contre le stress oxydant et contre le développement de certaines maladies.

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et sources naturelles biologiquement actives dans les noyaux de dattes « Ajwa ». Il serait intéressant cependant de:

- Réaliser des études plus approfondies pour identifier précisément les métabolites secondaires présents dans les dattes étudiées et déterminer leurs structures.
- Poursuivre les études sur les activités biologiques des dattes afin de permettre dans le futur de préparer des produits à intérêt thérapeutique.
- Confirmer nos résultats *in vivo* avec une étude *in vitro* de l'évaluation de l'effet anti-hémolytique.

1. Abdul Afiq MJA, Rahman RA, Man YBC, Al-Kahtani HA, Mansor TST. 2013. Date seed and date seed oil. *International Food Research Journal*, 20(5), 2035.
2. Al-Farsi, M. A. and Lee, C. Y. 2011. Usage of date (*Phoenix Dactylifera* L.) seeds in human health and animal feed. In Preedy, V.R., Watson, R.R.; Patel, V.B. (eds). *Nut Seeds in Health and Disease Prevention*. p 447- 452. USA: Elsevier.
3. Al-Qarawi AA, Merghany Mousa H, Hamed Ali BE, Abdel-Rahman H, Ahmed El-Mougy S. 2004. Protective Effect of Extracts from Dates (*Phoenix dactylifera* L.) on Carbon Tetrachloride–Induced Hepatotoxicity in Rats. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 2(3): 176-180.
4. Andersen MØ, Markham KR, 2006. FLAVONOIDS, Chemistry, Biochemistry and Applications. *Natural Products from Plants*. Edition Taylor & Francis Group, LLC.
5. Belmir S, Boucherit K, Boucherit-Otmani Z., Belhachemi M-H. 2016. Effect of aqueous extract of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) on therapeutic index of amphotericin B. *Phytothérapie*.14:97-101. DOI: 10.1007/s10298-015-0961-z.
6. Benchelah AC, Maka M, 2006. Les dattes, de la préhistoire à nos jours. *Phytothérapie* 4: 43-47. DOI :10.1007/s10298-006-0139-9.
7. Bengag,A. 2009.caracterisation phytochimique et activité antioxydante de quelque cultivars de *Phoenix dacylifera* L (mémoire de magistère).Université d’Oran Es-Sénia.
8. Boussena Z, khali M. 2016. Extraction et composition chimique d'huile de noyaux de dattes algériennes. *Nutrition & Santé*, 05(02): 100-106.
9. Bruneton J. 1999. *Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales*. 3ème édition. Paris: Tec & Doc. Lavoisier.
10. BulmusV, Woodward M, Lin L, Murthy N, Stayton P, Hoffman A. 2003. A new ph-responsive and glutathione-reactive, endosomal membrane disruptive polymeric carrier for intracellular delivery of biomolecular drugs. *Journal of controlled Release*, 93(2), 105-120.
11. 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*, 10(13): 2202-2207.
12. Chaouche TM.2014. Contribution a l’étude des activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de quelques plantes médicinale, (thèse de doctorat inédite), Université de Tlemcen.

13. Chira K, Suh J-H, Saucier C, Teissède PL, 2008. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6: 75–82 .DOI:10.1007/s10298-008-0293-3.
14. Dacosta Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs. Editions Yves Dacosta. Paris, 317p.
15. Edeas M. 2007. Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie* 5 :264-270, DOI : 10.1007/s10298-007-0268-9.
16. FAO. 2019 la situation mondial de L'alimentation et de l'agriculture.
17. Favier A. 2006 . Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64: 390-396.
18. FrancoT. Low PS. 2010. Erythrocyte adducin: A structural regulator of the red blood cell membrane. *Transfusion Clinique et Biologique*, 17 : 87–94.
19. Gasmi Abdelkrim. Le palmier dattier, 2012, Edition Elaourassia, Algérie.
20. Golshan Tafti, A., Solaimani Dahdivan, N. et Yasini Ardakani, S.A. 2017. Physicochemical properties and applications of date seed and its oil. *International Food Research Journal* 24(4): 1399-1406.
21. Khalid S, Khalid N, Khan RS, Ahmed H,Ahmad A. 2017. A review on chemistry and pharmacology of Ajwa date fruit and pit. *Trends in Food Science and Technology*. 63:60–69.
22. Karmakar I, Dolai N, Saha P, Sarkar N, Bala A, Kanti PS, 2011. scavenging activity of Curcuma caesia rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental medicine* 11:221–228
23. Karou D, Dicko MH, Simpore J, Traore AS. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of. Biotechnology*. 4: 823-828.
24. Kélvín de Albuquerque Mendes M, Bremmer dos Santos Oliveira C, AlvesVeras MD, Araújo BQ, Dantas C, Chaves MS, Lopes Júniora CA, Vieiraa EC. 2019. Application of multivariate optimization for the selective extraction of phenolic compounds in cashew nuts (*Anacardium occidentale* L.). *Talanta*. 205: 120100
25. Laouini S.2014. Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf) (Thèse de doctorat inédite). Université Mohamed Khider Biskra.
26. Li H-B, Cheng K-W, Wong C-C, Fan K-W, Chen F, Jiang Y. 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102: 771–776.

27. Manaargadoo-Catin M, Ali-Cherif A, Pognas JL, Perrin C. 2016. Hemolysis by surfactants- A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 228:1-16.
28. Mohandas N, Gallagher PG. 2008. Red cell membrane: past, present, and future. *blood*, 112 : 3939-3948.
29. Oyepado O, Akinpelu BA, Akinwunmi KF, Adeyinka MO, Sipeolu FO. 2010. Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International journal of plant physiology and biochemistry*, 2(4):46-51.
30. Pisoschi AM, Pop A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97:55-74.
31. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.
32. Roussel C, Buffet P, Amireault P .2020. Conserver les globules rouges pour la transfusion Red Blood Cells storage lesion and transfusion. *Revue Francophone des Laboratoires*, 525 :52-58.
33. Sabeur I, Saidi S. 2019. Contribution à l'étude de l'activité anti-inflammatoire de noyaux des dattes (*Phoenix dactylifera*) variété « Deglet Nour » Etude in vivo- chez les souris NMRI (mémoire). Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
34. Sadique J, Al-rqobah W A, Bughaith MF, El-Gindy AR. 1989. The bio-activity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. *Fitoterapia*, 60:525-532.
35. Sayeh Z. 2018. Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques et activités biologiques de quelques dattes sèches, molles et demi-molles de la cuvette de Ouargla au stade Routab et Tmar. (Thèse de doctorat inédite). Université Kasdi Merbah Ouargla.
36. Sun B, Richardo-da-Silvia JM, Spranger I, 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46(10): 4267-4274.
37. Valko M , Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39: 44-84.

38. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W.1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555–559.