

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Microbiologie Appliquée et  
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية  
وعلوم التغذية.

**Mémoire de Master**

**Filière : Sciences Alimentaires**

**Option : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité**

**Thème**

**Extraction et caractérisation partielle des polysaccharides  
hydrosolubles des feuilles d'espèce *Corchorus olitorius* L**

**Membres de Jury**

**Présidente : Dr. BOUCHEFRA A.**

**Examinatrice : Dr. DJABALI S.**

**Encadrant : Dr. LAGGOUNE S.**

**Présenté par**

**Melle : BOUDJEDIR Badra.**

**Melle : BOUHEZILA Hiba.**

**Année Universitaire 2021-2022**

**Numéro d'ordre (bibliothèque) : .....**



## REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire a été effectué au sein du laboratoire de pharmacologie et toxicologie du centre de la recherche nationale en biotechnologie (CRBT), situé à la wilaya de Constantine et le laboratoire de contrôle de qualité, département de Microbiologie Appliquée et des Sciences Alimentaires, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel.

Avant tout, on remercie Dieu «ALLAH» le tout Puissant, de nous avoir donné la force, la patience et la volonté pour accomplir ce travail. Nous tenons à remercier vivement notre promotrice D<sup>r</sup> **Souheila Laggoune**, d'avoir accepté de nous encadrer en nous donnant confiance afin de réaliser ce modeste travail, dont tout le mérite lui revient. On l'a remercié pour son aide et ses remarques ainsi que tous les conseils qu'elle n'a cessé de nous prodiguer tout au long de ce travail.

Nous tenons à exprimer nos grandes considérations aux membres de jury D<sup>r</sup> **BOUCHEFRA A.** et D<sup>r</sup> **DJABALI S.** pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions également chaleureusement Monsieur **Bensouici Chawki** pour nous avoir donné la possibilité de manipuler au sein du laboratoire de CRBT.

Nos remerciements s'adressent également à tous les membres de l'équipe du laboratoire de contrôle de qualité, leur qualités humaine et scientifique ont été indispensables pour mener à bien ce travail commençant par Mme **Asma**, Mme **Nassiha**, et Mme **Badra, Imen** et **Moukhtar** ...

Nos sentiments de reconnaissance vont également à toute personne ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

## **Dédicace**

**À la mémoire de ma  
très chère mère**

**BADRA**

## *Dédicaces*

*À l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma Grand-Mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude*

*À mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*À mes très chers frères: Mahdi, Noufal, Muhammad Al-Amin.*

*À toutes la famille BOUHEZIZA spécialement BOUHEZIZA Saïd et BOUHEZIZA Qumra.*

*À tous mes collègues du Master 2 de contrôle de qualité.*

*À tous ceux qui m'ont connu et aidé dans ce travail de près ou de loin.*

**HUBA**

## Sommaire

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

|                           |   |
|---------------------------|---|
| <b>Introduction</b> ..... | 1 |
|---------------------------|---|

## Partie 1 : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur *Corchorus olitorius* Linn

|   |   |
|---|---|
| I.1. Généralités sur <i>C. olitorius</i> L..... | 3 |
| I.2. Taxonomie .....                            | 3 |
| I.3. Noms vernaculaires .....                   | 4 |
| I.4. Description .....                          | 4 |
| I.5.composition chimiques des feuilles .....    | 4 |

### Chapitre II : Généralité sur les polysaccharides

|   |    |
|---|----|
| II.1. Caractères générales des polysaccharides .....  | 5  |
| II.2. Nomenclature des polysaccharides.....   | 5  |
| II.3. Propriétés et applications des polysaccharides .....                                    | 7  |
| II.4. Activités biologiques des polysaccharides extraits des plantes.....                     | 9  |
| II.4.1. Activité anti-oxydante .....  | 9  |
| II.4.2. Méthodes d'évaluation des propriétés anti-oxydantes.....                              | 9  |
| II.4.2.1. Piégeage du radical 2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique] (ABTS)..... | 9  |
| II.4.2.2. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH') .....             | 10 |
| II.4.2.3. Pouvoir réducteur de fer FRAP .....   | 11 |
| II.4.2.4. Activité Phénanthroline .....   | 12 |
| II.4.2.5. Activité nanoparticule d'argent (SNP) .....   | 12 |
| II.4.3. Anti-Alzheimer .....  | 13 |

## Partie 2 : Etude expérimentale

### Chapitre I : Matériel et méthodes

|   |    |
|---|----|
| I.1. Matériel végétal .....   | 14 |
| I.2. Extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de <i>C.olitorius</i> L..... | 14 |
| I.3. Evaluation des paramètres physico-chimiques .....                                      | 15 |
| I.3.1. pH.....  | 15 |
| I. 3.2. Acidité titrable .....  | 15 |
| I.3.3. Humidité et matière sèche.....   | 15 |
| I.3.4. Cendres et matière organique.....  | 16 |
| I.3.5. Tenur en pectine.....  | 16 |
| I.4. Dosage de la vitamine C .....  | 17 |
| I.5. Etude de la qualité nutritionnelle .....   | 17 |
| I.5.1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford.....                                 | 17 |
| I.5.2. Détermination de la teneur en protéine par Kjeldahl .....                            | 17 |
| I.5.3. Dosage des sucres totaux .....   | 18 |

|   |    |
|---|----|
| I.5.4. Dosage des sucres solubles .....   | 19 |
| I.5.5. Dosages des oses neutres (ON) .....  | 19 |
| I.5.6. Acides aminés libres .....   | 20 |
| I.6. Etude des propriétés anti-oxydantes .....  | 20 |
| I.6.1. Activité anti-radicalaire au DPPH .....  | 20 |
| I.6.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....                          | 21 |
| I.6.3. Activité du pouvoir réducteur de fer (FRAP) .....  | 21 |
| I.6.4. Activité nanoparticules d'argent (SNP).....  | 21 |
| I.6.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> –phénanthroline..... | 22 |
| I.7. Activité Anti-(acétyl / butyle) cholinestérase .....                                       | 23 |
| I.8. Analyses statistiques .....  | 23 |

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

|  |    |
|--|----|
| II.1. Rendement d'extraction des polysaccharides .....   | 24 |
| II.2. Résultats de la caractérisation physico-chimique .....                                     | 24 |
| II.2.1. pH et l'acidité titrable .....   | 24 |
| II.2.2. Humidité et matière sèche .....  | 24 |
| II.2.3. Cendres et matière organique .....   | 25 |
| II.2.4. Détermination de la teneur en pectine .....  | 25 |
| II.3. Détermination de la vitamine C.....  | 25 |
| II.4. Étude de la qualité nutritionnelle.....  | 26 |
| II.4.1. Détermination des protéines .....  | 26 |
| II.4.2. Détermination des sucres totaux .....  | 26 |
| II.4.3. Détermination des sucres solubles.....   | 27 |
| II.4.4. Détermination des oses neutres (ON).....   | 27 |
| II.5. Etude des propriétés anti-oxydantes .....  | 27 |
| II.5.1. Activité anti-radicalaire DPPH.....  | 27 |
| II.5.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....                          | 29 |
| II.5.3. Activité du pouvoir réducteur de fer (FRAP).....   | 31 |
| II.5.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> -phénantroline ..... | 32 |
| II.5.5. Activité des nanoparticules d'argent (SNP) .....   | 33 |
| II.6. Activité anti-acétylcholinestérase (anti-Alzheimer) .....                                  | 35 |
| <b>Conclusion</b> .....  | 36 |
| <b>Références bibliographiques</b> .....   | 37 |

**Annexes**

**Résumé**

## **Liste des abréviations**

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**AOAC** : Association Of Analytical Communities.

**CuSO<sub>4</sub>** : Sulfate de cuivre.

**EBPOLY** : Extrait brut des polysaccharides

**GSH-Px** : Glutathion réduit/oxydé.

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

**ISO** : International Standard Organization.

**KCN** : cyanure de potassium.

**LDL** : Low density lipoprotein.

**NaOH** : hydroxyde de sodium.

**pH** : Potentiel Hydrogène.

**SNP** : silver nanoparticule.

**Tpm** : Tour par minute.

**EGLU** : Equivalence Glucose

**ESAB** : Equivalence Sérum Albumine Bovin

**AC** : Acide Citrique

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 01</b> : Feuilles de <i>C. olitorius</i> L .....  | 3  |
| <b>Figure 02</b> : Exemple de structure générale des polysaccharides .....  | 6  |
| <b>Figure 03</b> : Oxydo-réduction de l'ABTS en ABTS <sup>•+</sup> .....  | 10 |
| <b>Figure 04</b> : Mécanisme d'action du DPPH .....   | 11 |
| <b>Figure 05</b> : Réaction de la méthode FRAP .....  | 11 |
| <b>Figure 06</b> : Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les antioxydants .....   | 12 |
| <b>Figure 07</b> : Réduction d'Ag <sup>+</sup> par les polyphénols .....  | 13 |
| <b>Figure 08</b> : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman .....  | 13 |
| <b>Figure 09</b> : Dispositif de Kjeldahl (dispositif de minéralisation, dispositif de distillation) ....   | 18 |
| <b>Figure 10</b> : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti-radicalaire du DPPH.....   | 27 |
| <b>Figure 11</b> : Courbe représentant les variations du pourcentage de piégeage du radical libre DPPH de l'EBPOLY, BHA et BHT.....   | 28 |
| <b>Figure 12</b> : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti-radicalaire de l'ABTS.....   | 29 |
| <b>Figure 13</b> : Courbe représentant les variations du pourcentage de piégeage du cation radicalaire ABTS de l'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique.....                        | 30 |
| <b>Figure 14</b> : Profil de la microplaque du test de pouvoir réducteur FRAP.....  | 31 |
| <b>Figure 15</b> : Courbes représentant les variations de l'activité anti-oxydante par pouvoir réducteur (FRAP) de l'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique .....                   | 31 |
| <b>Figure 16</b> : Profil de la microplaque du dosage de l'activité phénanthroline .....  | 32 |
| <b>Figure 17</b> : Courbes représentant les variations de l'activité anti-oxydante de réduction du fer par la méthode phénanthroline d'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique ..... | 33 |
| <b>Figure 18</b> : Profil de la microplaque du dosage de l'activité SNP .....   | 34 |
| <b>Figure 19</b> : Courbe représentant les variations de l'activité des nanoparticules d'argent (SNP) d'EBPOMY, Trolox et l'Acide ascorbique.....                                 | 34 |
| <b>Figure 20</b> : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti-acétylcholinestérase.....  | 35 |



## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau 01</b> : Classification botanique de <i>C. oclitorius</i> L .....   | 4  |
| <b>Tableau 02</b> : Origine des principaux polysaccharides .....   | 5  |
| <b>Tableau 03</b> : Principales fonctions et applications des principaux polysaccharides utilisés dans l'industrie alimentaire ..... | 8  |
| <b>Tableau 04</b> : Concentrations inhibant 50% (CI <sub>50</sub> ) de l'activité du piégeage du radical DPPH.....                   | 28 |
| <b>Tableau 05</b> : concentrations inhibant 50% (CI <sub>50</sub> ) de l'activité du cation radical ABTS.....                        | 30 |
| <b>Tableau 06</b> : Réduction du fer par la méthode FRAP.....  | 32 |
| <b>Tableau 07</b> : Réduction du fer par la méthode phénanthroline.....  | 33 |
| <b>Tableau 08</b> : détermination des nanoparticules d'argent par test SNP .....   | 35 |

---

---

# **Introduction**

---

---

Les ressources alimentaires mondiales ont tendance à être réduites à un nombre limité d'espèces végétales. Cette situation engendre la disparition progressive de nombreuses espèces cultivées ou en proticulture. De telles espèces se rencontrent notamment dans les régions tropicales où des croyances, tendances et des traditions séculaires contribuent au maintien de plusieurs cultures désignées comme cultures mineures (**Kahane et al., 2005**). Ces plantes contribuent de manière essentielle à l'alimentation en assurant la survie en temps de disette et en apportant des nutriments rares dans la ration alimentaire (**Herzog, 1992**). *Corchorus olitorius* L est une espèce sous-utilisée du genre *Corchorus* de la famille des Tiliaceae communément appelée courge de jardin. *C. olitorius* L est considérée comme un légume muqueux (**Fondio et Grubben, 2004**). Du fait de la richesse de ses jeunes feuilles en nutriments (vitamine C, provitamine A, sels minéraux, protéines), *C. olitorius* L peut être une « arme puissante » contre les carences nutritionnelles, notamment dans les pays en voie de développement (**Soro et al., 2012**).

Elle pousse en Afrique, en Égypte, au Moyen-Orient, aux Philippines, Thaïlande, Inde et Népal (**Ali et al. 2006**). La plante est cultivée en Égypte pour ses feuilles, qui offre l'un des types les plus célèbres de mauve connue sous ce nom (**Bolus, 2002**). L'Inde, le Pakistan et le Bangladesh cultivent la plante pour la fibre et en tant que médecine populaire. Pour les Égyptiens, la mauve était un symbole de leur domicile pendant une longue période. S'est avérée avoir des propriétés apaisantes, utilisée comme remède populaire contre les maux, les douleurs et les gonflements (**Kagawa et al., 2007**).

Les composants photochimiques de *C. olitorius* L, y compris les composants biologiquement actifs des molécules, des protéines, des glucides, ainsi que des polysaccharides ont été rapportés (**Simopoulos et Sidossis, 2013**).

Les polysaccharides sont les macromolécules les plus abondantes sur terre et dans les océans. Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux et peuvent être impliquées dans des mécanismes de reconnaissance de type végétaux/environnement (**Théo et Christian, 2008**). Les polysaccharides forment un groupe diversifié de glucides et peuvent être classés selon : leur origine, leur nature ou leur digestion dans le système gastro-intestinal humain. La longueur de la chaîne, le nombre et le type des unités latérales et la charge chimique de la molécule influent sur les propriétés fonctionnelles des polysaccharides (**Patterson et al., 2008**).

Les polysaccharides ne sont pas seulement utilisés comme réserve d'énergie par les organismes vivants, mais aussi pour assurer de nombreuses fonctions biologiques. Peut être extrait de nombreux êtres vivants, tels que les animaux et les plantes supérieures (**Yong et al., 2009**).

L'objectif de cette étude est d'étendre l'utilisation de *C. olitorius* L, ainsi que d'essayer de montrer les propriétés de l'extrait brut des polysaccharides pour une utilisation dans l'industrie agro-alimentaire.

## Introduction

---

Les polysaccharides extraits des feuilles sont une des matières premières essentielles de l'industrie alimentaire. On ne compte plus les produits sucrés, de la confiserie aux boissons rafraîchissantes, des pâtisseries aux crèmes desserts, jusqu'aux conserves de petits pois qui l'utilisent comme additif (**Leung et al., 2006**).

Les travaux de recherche s'orientent vers l'étude des activités biologiques des polysaccharides. L'analyse de la littérature met en évidence les polysaccharides hydrosolubles extraits des feuilles en tant que composés multifonctionnels. (**Délattre et al., 2005**).

Donc, l'objectif principal de notre travail est l'étude des caractères partiels de polysaccharides des feuilles de *C. olerouis* L et leurs activités biologique.

Notre travail sera reparti en deux volets, initié par une revue bibliographique où nous présenterons dans le premier chapitre des données générales sur l'espèce étudiée, et dans le deuxième chapitre des généralités sur les polysaccharides hydrosolubles et leurs activités.

Le second volet présentera les méthodes analytiques utilisées et les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

La fin du mémoire sera consacrée à une conclusion générale, avec les références bibliographiques et une partie d'annexes.

---

---

# **Partie 1 : Rappel bibliographique**

---

---

---

---

**Chapitre I :**  
**Généralités sur**  
***C. olitorius* L**

---

---

### I.1. Généralité sur *C. olerius* L

*C. olerius* L est une plante alimentaire et médicinale satisfaisante. Cette plante est herbacée saisonnière, cultivée en saison pluvieuse. Mais elle existe sur les marchés pendant toute l'année (figure 1) (Giro, 2017).



**Figure 01** : Feuilles de *C. olerius* L (Soro, 2012).

### I.2. Taxonomie

D'un point de vue étymologique, le mot « mouloukhia » vient du mot « Mlouk » qui signifie « roi » ce nom désigne un plat royal sacré de l'Égypte antique qui est une espèce de plantes dicotylédones elle est signalé comme légume sauvage ou cultivé dans de nombreux pays (Kiebre et al., 2016).

*C. olerius* L renferme une quarantaine d'espèces dont l'espèce *C. olerius* L trouvée dans les pays d'Afrique et d'Asie et utilisé comme légume mucilagineuse. Le tableau 01 représente la classification botanique de *C. olerius* L.

Tableau 1 : Classification botanique de *C. olitorius* L (Mahbubul, 2013).

| Règne          | <i>Plantae</i>               |
|----------------|------------------------------|
| Sous-règne     | <i>Tracheobionta</i>         |
| Super-division | <i>Spermatophyta</i>         |
| Division       | <i>Magnoliophyta</i>         |
| Classe         | <i>Magnoliopsida</i>         |
| Sous-classe    | <i>Dilleniida</i>            |
| Ordre          | <i>Malvales</i>              |
| Famille        | <i>Tiliaceae</i>             |
| Genre          | <i>Corchorus</i> L           |
| Espèce         | <i>Corchorus olitorius</i> L |

### I.3. Noms vernaculaires

*C. olitorius* L est également connue sous les noms *molehiya* dans le nord de Chypre, en Turquie et aux Philippines, *moroheiya* au Japon, *mauve du juif* dans L'hébreu et le *gombo* au Nigeria et dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest (Özdenefe et al., 2018). Elle a d'autres noms comme : *bush okra*, *nalta jute*, *jute mallow*, *jew's mallow*, *ewedu*.

### I.4. Description

*C. olitorius* L c'est une plante de la famille des Tiliaceae dont l'usage est répandu dans de nombreux pays en Afrique et en Asie. Ces feuilles constituent sa partie comestible la plus utilisée, celle qui est triangulaire, à long pétiole et limbe glabre, dentée sur sa marge, se singularise par deux longues dents sues basales. Sa tige ramifiée au sommet est rigide et fibreuse et ses petites fleurs jaunes à pétales non glanduleux, font place à des fruits capsulaires, déhiscents, cylindriques et surmontés d'un bec net (Noubissié, 2015).

*C. olitorius* L c'est une plante de hautes herbes généralement annuelle, atteignant une hauteur de 2,4m. La plante pourrait être non ramifiée, ou avec seulement quelques branches latérales.

Les feuilles sont alternes, simples, lancéolées, finement dentelées ou marge lobée. Les fleurs sont hermaphrodites, et sont pollinies par les insectes. Les fleurs sont petites (02–03cm de diamètre) et jaune, à cinq pétales. Le fruit est une capsule à plusieurs graines. Il se propage par graines. La plante préfère la lumière, moyenne et lourde (sols argileux).

Il pousse en milieu acide, neutre et basique (alcalin) sols. Il ne tolère pas les environnements ombragés et nécessite un sol humide. Le jute est autogame (Loumerem et Alercia, 2016).

### I.5. Composition chimique des feuilles

Les feuilles sont caractérisées par leur viscosité et sont utilisées fraîches ou sèches et sont de riches sources de vitamines et de métaux. Nutritionnellement contiennent 85-87g d'eau, 5,6g de protéines, 0,7g d'huile, 5g Glucides, 1,5g Fibres, 250-266mg Calcium, 4,8mg Fer, 1,5mg Vitamine A, 0,1mg Thiamine (vit B1), 0,3mg Riboflavine (vit B2), 1,5mg Nicotinamide (vit B3), 53-100mg Acide ascorbique (vit C), 5g de carbohydrates pour 100g (Loumerem et Alercia, 2016).



---

---

**Chapitre II :**  
**Généralité sur les**  
**polysaccharides**

---

---

### II.1. Caractéristiques générales

Les polysaccharides sont appelés les polyosides ou les glycanes, sont de longues chaînes polymères de monosaccharides liées entre eux par des liaisons glycosidiques pour avoir la configuration  $\alpha$  ou  $\beta$ , et sans taille moléculaire définit.

Les polysaccharides ramifiés peuvent posséder différents degrés de ramification, c'est-à-dire peu branchés, avec des ramifications régulièrement ou irrégulièrement espacées, courtes ou longues. Ils sont composés de plus de dix polysaccharides pouvant compter plusieurs milliers d'unités et avoir des poids moléculaires considérables. Les polysaccharides sont présents dans la plupart des organismes vivants, principalement dans les végétaux. Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur composition en monomères en deux classes : les polysaccharides homogènes et les polysaccharides hétérogènes (Xiao et Grinstaff,2017).

Chez les animaux, l'excès de glucose est stocké sous forme d'un long polysaccharide ramifié appelé glycogène, alors que chez la majorité des végétaux, la forme principale de stockage du glucose est l'amidon, un autre long polysaccharide. Les bactéries et les levures stockent le glucose polymérisé sous forme d'un autre type de polysaccharide : le dextrane.

Il s'agit de réserves nutritives qui peuvent être dégradées en cas de besoin, les monosaccharides résultants étant ensuite métabolisés pour fournir l'énergie nécessaire. Au contraire, la cellulose est un polysaccharide de structure des parois cellulaires végétales(Patrice,2011).

La solubilité de polysaccharides est différente selon les origines. Certains polysaccharides sont insolubles dans l'eau (par exemple la cellulose et chitine) (Xiao, 2011).

La diversité des structures et des emplois des polysaccharides a été conduite à adopter une classification fondée sur leur origine (Tableau 03).

**Tableau 02 : Origine des principaux polysaccharides (Sandrine, 2004).**

| Origine des polysaccharides | Polysaccharides  |
|-----------------------------|--|
| <b>Végétal</b>              | Agar ; Agarose ; Alginate ; Amidon ; Arabinogalactane ; Arabinoxylane ; $\beta$ -glucane ; Carraghénane ; Cellulose ; Galactomannane ; Glucomannane ; Pectine ; Ulvane ; Xylane (hémicellulose) ; Xyloglucane. |
| <b>Bactérienne</b>          | Curdlane ; Gellane $\beta$ ; Pullulane ; Xanthane.   |
| <b>Animal</b>               | Chitine et chitosane ; Héparine ; Hyaluronane ; Sulfate de chondroïtine.   |
| <b>Fongique</b>             | Krestine ; Lentinane ; Schizophyllane ; Scléroglycane.   |

## II.2. Nomenclature des polysaccharides

La nomenclature des polysaccharides suit les principes généraux de la nomenclature organique et glucidique établie. Pour une nomenclature abrégée, soit terminologie abrégée des chaînes d'oligosaccharides, un glycane est le nom donné à une grande molécule constituée d'un grand nombre de monosaccharides, qui sont des résidus glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques.

Le terme poly (glycose) n'est pas tout à fait synonyme de glycane car les résidus glycosylés sont liés dans ce cas par des liaisons non glycosidiques. Le nom du polysaccharide (glycane) constitué de polysaccharides simples est formé par le nom du composant sucre et en ajoutant le suffixe (ane), lorsque la composition des résidus monomères est connue, un D ou un L peut être inclus dans le nom des sucres. Pour les sucres qui contiennent un grand nombre de résidus de sucres aminés, le nombre de polysaccharides et le terme de glycosaminoglycane fonctionnel peuvent être utilisés.

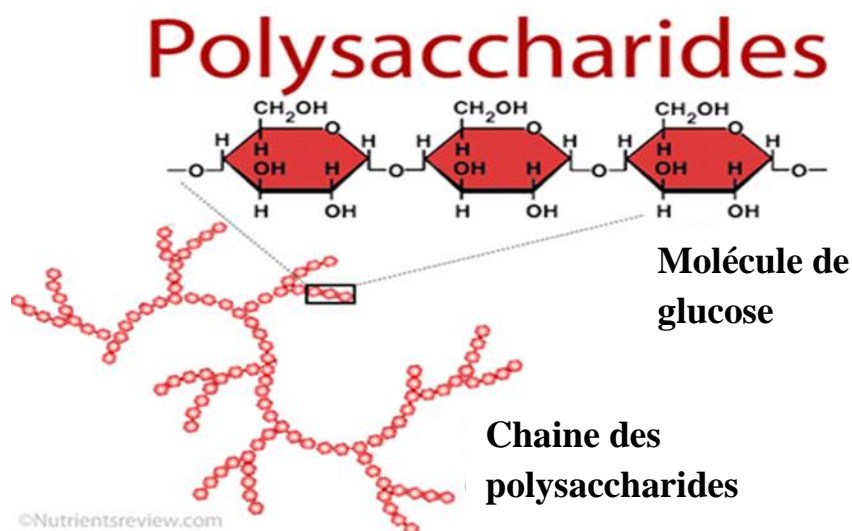
Le terme oligosaccharide est généralement utilisé pour les glucides constitués de 2 à 10 résidus polysaccharidiques. Un polysaccharide (glycane) composé entièrement de résidus acides glycuronique est appelé en remplaçant l'acide d'IQUE" par "ane". Le nom générique pour ce groupe est "glycuronane".

Un polysaccharide composé entièrement de résidus de sucre aminés est appelé par la nomenclature systématique concernant le sucre aminé.

Un hétéropolysaccharide (heteroglycane) est un polymère contenant deux genres ou plus de sucre (glycose) ou sucre modifié (par exemple, aminodeoxyglycose ou acide glycuronique).

Les polymères contenant les résidus en covalence liés de monosaccharide et d'acide aminé se nomment des glycoprotéines, des protéoglycanes, et des peptidoglycanes (**IUB-IUPAC, 1980**).

La figure présentée ci-dessous (Figure 02) illustre un exemple de la structure générale des polysaccharides



**Figure 02** : Exemple de structure générale des polysaccharides (**Stephen et Churms., 1995**).

### II.3. Propriétés et applications des polysaccharides

Les propriétés ont été mises en exergue en fonction de leur utilisation dans le domaine alimentaire.

La nature des polysaccharides influence fortement leurs propriétés physiques. Dans le domaine alimentaire ce sont les propriétés en solution qui revêtent plus d'importance, en milieu aqueux les molécules linéaires forment généralement des solutions plus visqueuses que les molécules branchées car elles ont un volume hydrodynamique plus important.

Les molécules linéaires ont aussi une plus grande tendance à précipiter en milieu concentré car leur conformation favorise les interactions intermoléculaires. Il peut en résulter un état plus ou moins cristallin comme pour l'amidon lors de la rétrogradation certains homoglycanes comme la cellulose sont insolubles car les ponts hydrogène intra et intermoléculaires sont très stables et forment un réseau cristallin hautement organisé empêchant la pénétration de l'eau (**Boual et al.,2011**).

Les composés ramifiés sont souvent plus solubles que les composés linéaires et forment plus facilement des gels car les interactions intermoléculaires sont moins fortes. Par contre, les solutions sont souvent plus collantes à cause de l'enchevêtrement des chaînes latérales.

La charge des polymères exerce aussi une influence sur leur comportement en fonction du pH ou de la présence de sels (**Bousbia,2011**).

Par exemple, les pectines jouent un rôle important dans l'adhésion et le maintien des cellules des tissus végétaux en formant un ciment rattachant les cellules les unes aux autres. Ces substances ont fait l'objet de nombreuses recherches qui ont conduit au développement de nombreuses applications dans des domaines aussi différents que l'industrie cosmétique, plastique et pharmaceutique. Mais, l'utilisation la plus importante se situe dans l'industrie agro-alimentaire où les pectines sont essentiellement utilisées comme agents de texture, gélifiants, stabilisants et épaississants (**Claisse, 2012**) :

- Les pectines ont également fait l'objet d'une attention particulière de la part des nutritionnistes. Elles sont en effet utilisées comme des fibres alimentaires et exercent des effets physiologiques sur le tractus intestinal en réduisant le temps du transit et l'absorption du glucose.
- Certaines études sur l'utilisation de l'hémicellulose ont démontré qu'elles sont potentiellement très utiles. Une application pour l'hémicellulose est de les utiliser comme matière première de fermentation pour produire de l'éthanol, de l'acide lactique, de l'acétone, du butanol et du xylitol.
- Les hémicelluloses extraites de la paille de blé ont la capacité de servir d'adhésifs, de stabilisants et aussi comme épaississants et émulsifiants dans les aliments.
- De nombreuses études ont démontré que les hémicelluloses sont de bons formateurs de films et pourraient également avoir des applications potentielles comme nutraceutiques ou encore une activité antivirale. Avec la pénurie imminente en énergies fossiles, le glucose et les sucres fermentables suscitent un grand intérêt des industriels de l'énergie pour la production de bioéthanol et de produits chimiques bio-sources.

- De la structure cristalline de la cellulose en découle des propriétés mécaniques de résistance. Cependant, contrairement aux autres molécules cristallines, l'arrangement des chaînes de cellulose en fibrilles lui apporte également une grande flexibilité.
- La cellulose est un polysaccharide naturel d'intérêt puisqu'elle possède de nombreuses applications industrielles sous sa forme naturelle en tant que matériel, renfort ou encore tant qu'additif alimentaire sous la classification E460. La cellulose est la matière première pour la fabrication de dérivés de cellulose qui représentent également un très large marché.

Ils trouvent des applications dans des secteurs aussi variés que l'agroalimentaire, les matériaux ou le textile (Tableaux 03).

**Tableau 03 :** Principales fonctions et applications des principaux polysaccharides utilisés dans l'industrie alimentaire (Stephen et Churms, 1995).

| Polymères                      | Sources principales  | Fonctions  | Applications  |
|--------------------------------|--|--|---|
| <b>Agar</b>                    | Algues rouges<br>( <i>Gelidium ssp.</i> )                          | Agent gélifiant.   | Produits laitiers.<br>Produits carnés.  |
| <b>Gomme arabique</b>          | Extrait de sève<br>d' <i>Acacia senegal.</i>                       | Agent stabilisant.<br>Texturant.<br>Emulsifiant.<br>Encapsulation. | Confiseries.<br>Boulangeries.<br>Pâtisseries.<br>Boissons.<br>Sauces.   |
| <b>Galactomannane</b>          | Gomme de guar et de<br>locusie.<br>Gomme de graines de<br>caroube. | Agent stabilisant<br>rétention de l'eau.                           | Produits laitiers.<br>Crèmes glacés.<br>Desserts.<br>Boulangeries.<br>Pâtisseries.  |
| <b>Pectine</b>                 | Pomme, citrons et<br>autres fruits.                                | Agents gélifiants.<br>Stabilisant.<br>Texturant.<br>Emulsifiant.   | Confitures.<br>Agents de<br>conservation.<br>Boissons.<br>Boulangeries.<br>Pâtisseries.<br>Confiseries.<br>Produits laitiers. |
| <b>Gomme<br/>de tragacathe</b> | <i>Astragalus ssp.</i>   | Agents stabilisants.<br>Texturant.<br>Gélifiant.                   | Produits laitiers.<br>Assaisonnement.<br>Sauces.<br>Confiseries.  |
| <b>Gomme de<br/>Xanthane</b>   | <i>Xanthomonascampestris.</i>                                      | Agent stabilisant et<br>gélifiant.                                 | Assaisonnements.<br>Boissons.<br>Produits laitiers.   |

#### II.4. Activités biologiques des polysaccharides extraits des plantes

Grâce à leurs propriétés interactives et régulatrices, les polysaccharides participent au contrôle de l'activité cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration) mais également de l'activité de nombreuses enzymes. De telles molécules aux multiples fonctions spécifiques peuvent être exploitées en thérapeutique (Nie *et al.*, 2018).

##### II.4.1. Activité anti-oxydante

Les activités antioxydantes *in vitro* signifient principalement le piégeage des radicaux libres hydroxyles, l'élimination de l'anion super oxygène, la pouvoire réductrice. L'activité antioxydante *in vivo* est principalement déterminée par la capacité anti-oxydante totale, tel que l'activité du super oxyde dismutase(SOD) et de la glutathion peroxydase (GSH-Px) du sérum, du foie, du cœur et des reins de rats (Liu *et al.*, 2018).

Les radicaux libres sont définis comme tout produit chimique contenant un ou plusieurs électrons non appariés et les électrons libres produisent dans le cadre du métabolisme aérobie normal des cellules qui sont facilement acceptées par l'oxygène pour produire des ROS ou ERO (Espèces réactives de l'oxygène), tels que l'oxygène singlet, le super oxyde et les groupes contenant de l'oxygène (hydroxyle, HO<sup>•</sup>) et peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(Wang *et Dong.*, 2018).

##### II.4.2. Méthodes d'évaluation des propriétés anti-oxydantes

La diversité de la nature et la complexité des composés phyto-chimiques des extraits végétaux imposent le développement de nombreuses méthodes pour évaluer l'activité anti-oxydante et estimer l'efficacité de ces extraits. La majorité de ces méthodes sont colorimétriques. Elles peuvent être classés en deux groupes : les dosages utilisés dans les aliments et le système biologique pour évaluer la peroxydation des lipides tout en mesurant le degré d'inhibition de l'oxydation et les dosages utilisés pour mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres. Certains peuvent être basés sur le pouvoir réducteur du métal (pouvoir réducteur de fer " FRAP"), le piégeage des radicaux peroxyde(TRAP), le piégeage des radicaux hydroxyles (dosage de désoxyribose), le piégeage des radicaux organiques comme ABTS et DPPH, quantification des produits formés au cours de la peroxydation lipidique (Oxydation des LDL) (Benhammou *et al.*, 2009).

###### II.4.2.1. Piégeage du radical 2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique] (ABTS<sup>•+</sup>)

Dans cette méthode, l'activité anti-oxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>, obtenu à partir de l'ABTS [sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-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. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase met myoglobine ou herserais peroxidase) en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical ABTS<sup>•+</sup>, en contact avec un donneur de H<sup>•</sup> conduit à l'ABTS<sup>+</sup> et à la décoloration à 734nm de la solution. La cinétique de réaction de

l'antioxydant étudié doit être examinée préalablement pour déterminer la fin de réaction. La capacité anti-oxydante en équivalent Trolox (TEAC) correspond à la concentration (mmole/l ou mg/l) de Trolox ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester (Figure 03) (Marc *et al.*, 2004).

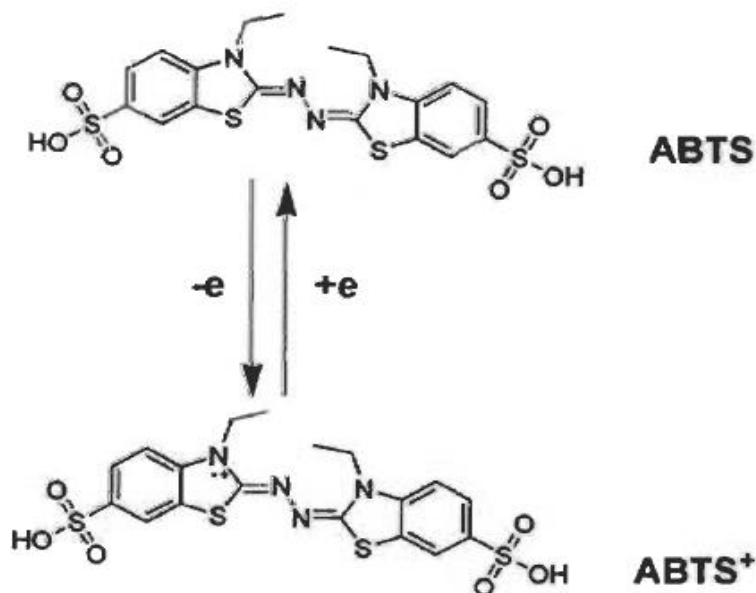


Figure 03 : Oxydo-réduction de l'ABTS en ABTS<sup>•+</sup> (Christopher *et al.*, 2014).

#### II.4.2.2. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl-hydrate (DPPH<sup>•</sup>)

Le test DPPH est utilisé pour évaluer l'activité de piégeage de divers produits naturels. Il a été généralement accepté comme un composé modèle pour les radicaux libres provenant de l'oxydation des lipides (Benhammou *et al.*, 2009).

Le DPPH possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. DPPH<sup>•</sup> reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation de l'électron donne également naissance à la couleur violette profonde, caractérisée par une bande d'absorption dans une solution d'éthanol centrée à environ 517nm. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à celle d'un substrat qui peut donner un atome d'hydrogène, alors cela donne la forme réduite avec la perte de cette couleur violette (Figure 04) (Alam *et al.*, 2013).

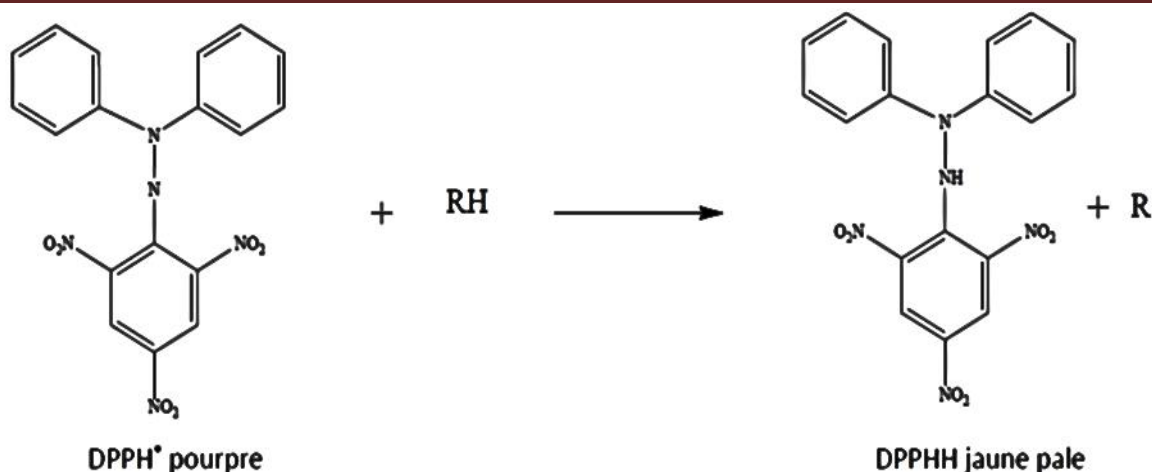


Figure 04 : Mécanisme d'action du DPPH (Krishnanand *et al.*, 2012).

#### II.4.2.3. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des produits testés à réduire le fer (le passage de la forme ferrique à ferreux). Elle consiste à observer après quatre minutes le changement d'absorbance à 700nm dû à la réduction du complexe  $\text{Fe}^{3+}$  - TPTZ (fer 2, 4,6-tripyridyls-triazine) et l'apparition d'une couleur bleue (Pellegrini *et al.*, 2003).

Originellement conçue pour mesurer le potentiel antioxydant du plasma sanguin, la méthode FRAP a pour avantage d'être aussi adéquate pour mesurer le potentiel de composés purs. De plus, elle est simple, rapide et peu coûteuse (Figure 05) (Prior *et al.*, 2005).

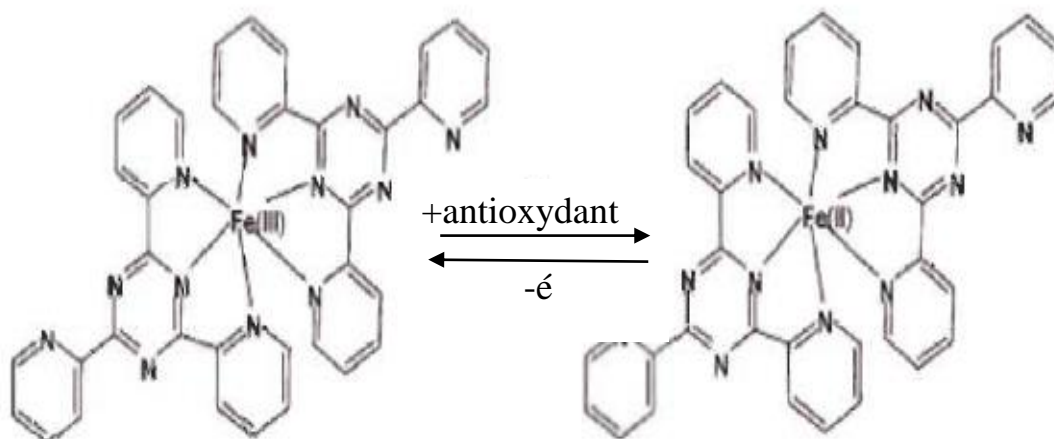


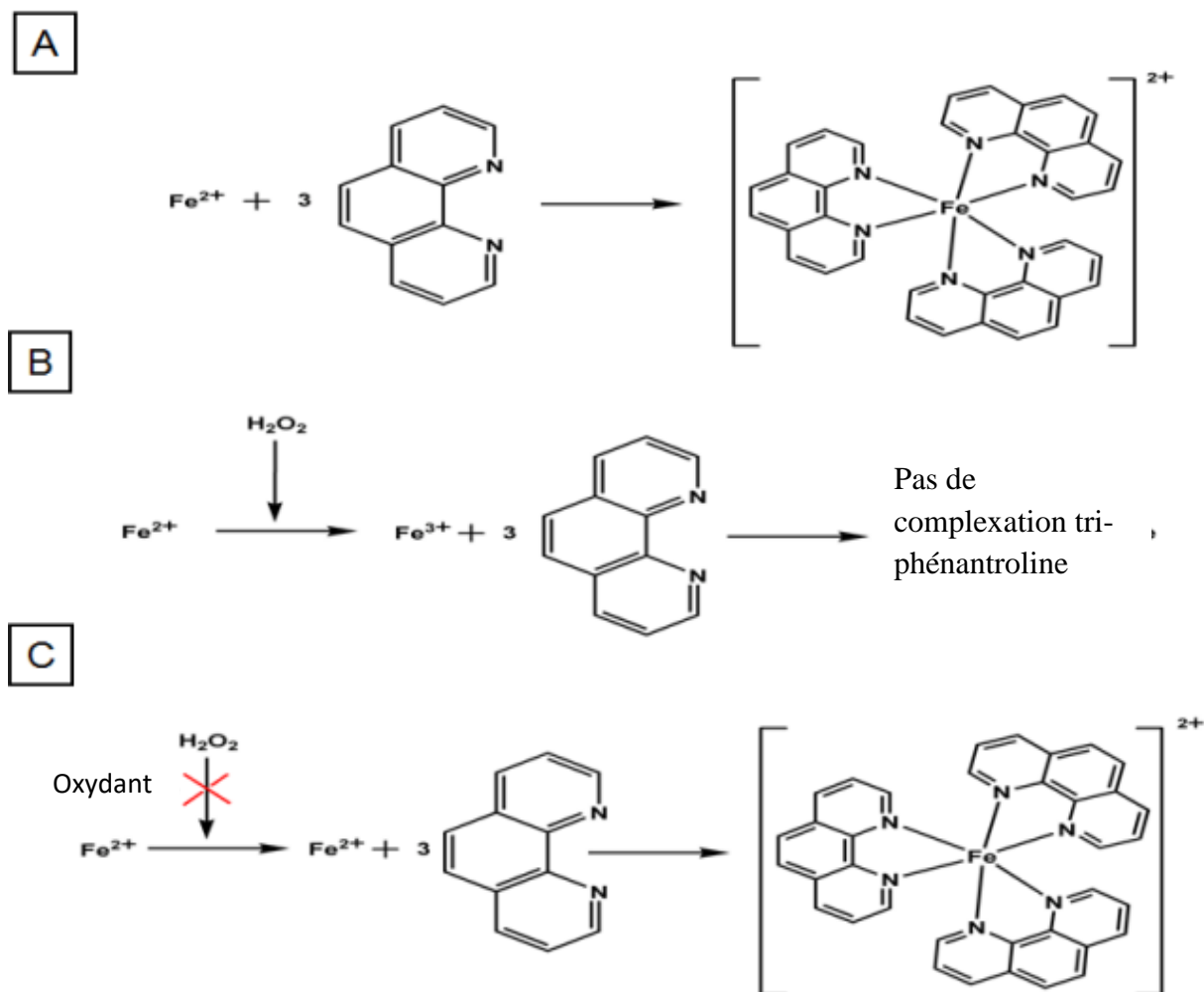
Figure 05 : Réaction de la méthode FRAP (Prior *et al.*, 2005).



#### II.4.2.4. Activité Phénanthroline

Ce test est basé sur la réaction de l'ion ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) avec la 1,10-phénanthroline. L'ion ferreux forme spécifiquement un complexe de triphénanthroline rouge-orange qui absorbe au maximum à 508-510 nm.

Si le peroxyde d'hydrogène est ajouté au tube avant l'ajout de 1,10-phénanthroline, alors  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxydera l'ion ferreux en ion ferrique qui est incapable de former un complexe rouge-orange avec la 1,10-phénanthroline (Figure 06) (Debanjan *et al.*, 2016).



**Figure 06** : Réaction de la capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les antioxydants (Debanjan *et al.*, 2016).

#### II.4.2.5. Activité nanoparticule d'argent (SNP)

Une méthode colorimétrique sensible pour la détection des polyphénols basée sur la réduction des ions  $\text{Ag}^+$  par les polyphénols en présence de graines d'argent stabilisées au citrate. La couleur de la suspension stable a été contrôlée en faisant varier la concentration de citrate trisodique, de nitrate d'argent et de graines d'argent. La réduction d' $\text{Ag}^+$  en nanoparticules d'argent sphériques (SNP) par les polyphénols produit une bande d'absorption de SNP très intense à 423nm (Figure 07) (Özyürek *et al.*, 2012).

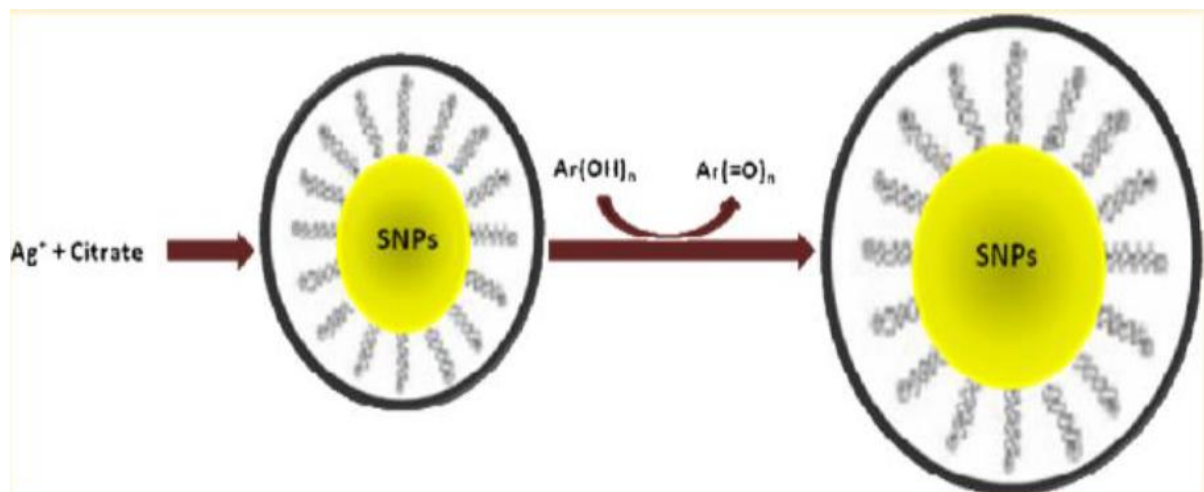


Figure 07 : Réduction d'Ag<sup>+</sup> par les polyphénols (Özyürek *et al.*, 2012).

### II.4.3. Anti-Alzheimer

L'activité inhibitrice de l'Acétylcholinestérase (AChE) d'extrait est déterminée par la méthode spectrophotométrique d'Ellman *et al.* (1961). Le principe consiste de mettre en contact l'extrait avec l'enzyme Acétylcholinestérase et son substrat étant l'Acétylcholine afin d'évaluer la capacité de l'extrait d'inhiber l'activité de l'enzyme l'AChE à dégrader son substrat l'Acétylcholine (Figure 08).

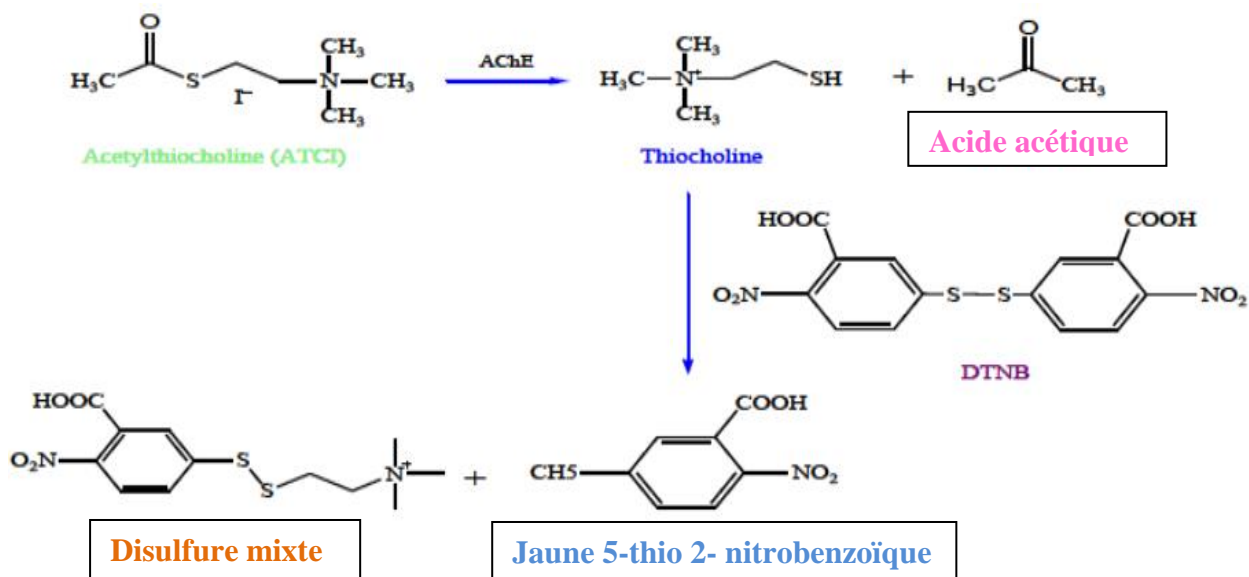


Figure 08 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman (Ali-Shtayeh *et al.* 2014).

---

---

# **Partie 2 : Etude expérimentale**

---

---

---

---

# **Chapitre I :**

# **Matériel et**

# **méthodes**

---

---

### I.1. Matériel végétal

Le choix de la plante *C. olitorius* L comme sujet d'étude dans ce travail a été guidé non seulement par l'utilisation traditionnelle, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et relativement peu étudiée en Algérie, sur cette base les feuilles séchées, qui ont été récoltées de la région de Biskra au mois de Mars 2022, ont été sélectionnées.

L'évaluation des paramètres physico-chimiques et le dosage des composés photochimiques et biochimiques ont été réalisés au niveau du laboratoire pédologique. Par ailleurs, l'activité anti-oxydante a été réalisée au niveau du laboratoire de pharmacologie et toxicologie du Centre de Recherche National en Biotechnologie, situé à Constantine.

### I.2. Extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles

Toutes les impuretés indésirables (pierre, brindilles, sable ...etc.) ont été éliminées. 30g des feuilles séchées à l'ombre d'*C. olitorius* L ont été coupées en petits morceaux, puis réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (Moulinex), enfin une étape de tamisage est effectuée et une poudre fine d'une granulométrie inférieure à 250µm a été récupérée et conservée.

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles de feuilles de *C. olitorius* L a été précédée d'une étape de délipidation et dépigmentation afin d'éliminer les substances contaminants les polysaccharides. En effet, 30g de poudre séchée et broyée de feuilles de *C. olitorius* L ont été macérées dans l'éther de pétrole à température ambiante pendant 24h. Cette opération est répétée trois fois, après filtration sur papier Wattman. Ensuite, la poudre traitée a été placée dans des plaques métalliques et séchée à la température ambiante et à l'abri de la lumière (Wang et al., 2013). Le résidu d'extraction séché a été prétraité par d'éthanol sous reflux à l'aide de l'appareil de Soxhlet (Wu et al., 2007 ; Li et al., 2013). Ensuite, le marc a été séché à température ambiante. (Ruiz, 2005)

L'extraction proprement dite des polysaccharides hydrosolubles a été effectuée par macération dans l'eau distillée à température de 80°C pendant 02h à 750tpm (Bain Marie-memert). Le mélange a été ensuite filtré et centrifugé (EBA 20) 5000tpm pendant 15minutes. Ensuite, le surnageant des polysaccharides hydrosolubles a été précipité par 03 volumes d'éthanol 96% à 04°C pendant 24h (Boual, 2014). Après une deuxième centrifugation à 5000tpm pendant 15mn, le culot obtenu a été lavé 03 fois par l'acétone. L'extrait obtenu a été ensuite séché à l'étuve à 40°C pendant 24h. La poudre séchée représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles de feuilles de *C. olitorius* L (Wang et al., 2013).

#### ➤ Le rendement d'extraction

Le rendement en extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé par la formule :

$$R (\%) = (M/M_0) \times 100$$

**Avec :**

**R :** Rendement de l'extraction en % ;

**M :** Poids de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles (g) ;

**M<sub>0</sub> :** Poids de la poudre sec de plante (g).

### I.3. Evaluation des paramètres physico-chimiques

#### I.3.1. pH

01g de l'extrait brut de polysaccharides a été mélangé avec de l'eau distillée à raison de 10%. Le pH de la solution obtenue a été mesuré à 25°C directement par un pH-mètre (Hanna instruments Ph 211) (AOAC, 1998).

#### I.3.2. Acidité titrable

L'acidité titrable a été déterminée par titration des acides avec une base selon la méthode ISO750(1998), qui consiste à ajouter de la soude (0.01N) à une solution de 10% de l'échantillon jusqu'à pH 8.1±0.2. Les résultats sont exprimés en g d'acide citrique par 100g d'extrait brut de polysaccharides. En utilisant la formule suivante :

$$\text{Acidité} = (C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} \cdot 0,064) \cdot 100 / \text{Prise d'essai}.$$

**Avec :**

**C<sub>NaOH</sub> :** Concentration de la solution de soude (0.01 mol/l) ;

**V<sub>NaOH</sub> :** Volume (ml) de soude versé ;

**Prise d'essai :** Poids de l'échantillon utilisé pour le test ;

**0.064 :** Facteur conventionnel établi pour l'acide citrique.

#### I.3.3. Humidité et matière sèche

La méthode décrite par Elleuch et al., (2008), a été utilisée pour la détermination de l'humidité et la matière sèche. Cette méthode consiste à évaporer l'eau contenue dans la matière première par séchage dans une étuve (memmert) à 105°C pendant 24heures. Le creuset propre, est séché à l'étuve puis refroidi au dessiccateur. La masse du creuset vide est alors mesurée. 0,5g de l'extrait brut de polysaccharides contenus dans le creuset ont été placés dans une étuve à 105± 2°C pendant 24heures. L'ensemble creuset plus l'échantillon séché a été refroidi au dessiccateur pendant 30min. Puis, la masse du creuset contenant l'échantillon séché M2 est déterminée. Le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$(\%) \text{Humidité} = \left[ \frac{M1 - M2}{Me} \right] \times 100$$

**Avec :**

**Me :** Masse (g) de l'échantillon ;

**M1 :** Masse (g) de l'ensemble (creuset + échantillon) avant étuvage ;

**M2 :** Masse (g) de l'ensemble (creuset + échantillon) après étuvage ;

La teneur par la suite en matière sèche est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 - (\%) \text{ H}$$

#### I.3.4. Cendres et matière organique

Les cendres ont été déterminées selon la norme française (NF V 05-113, 1972). La prise d'essai de 100mg de l'extrait brut de polysaccharides ont été mises dans un creuset en porcelaine préalablement séché et déterminé tous les poids à l'aide d'une même balance(OPTIKA). Ensuite, le creuset a été placé dans le four à moufle (Thermolyne 6000 Furnance) à 600°C, calciner à cette température jusqu'à l'apparition d'une coloration blanche ou grise puis le creuset en porcelaine avec la cendre ont été refroidis dans un dessiccateur pendant 35min, puis ce creuset en porcelaine a été pesé rapidement sur la même balance.

La teneur en cendre est calculée selon la formule suivante :

$$X = (G - G_1/g) 100 \%$$

Avec :

**G** : poids du creuset en porcelaine avec la cendre (g) ;

**G<sub>1</sub>** : poids du creuset en porcelaine (g) ;

**g** : poids de la prise d'essai(g) ;

Le pourcentage de la matière organique par la suite est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Matière organique (\%)} = 100 - \text{Cd (\%)}$$

#### I.3.5. Tenur en pectine

Les substances pectines ont été mesurées selon la méthode décrite par **Abou-Farrag et al., (2013)**. 0,5g d'extrait brut de polysaccharides a été ajoutés à 04ml d'eau distillée et bouillis pendant une heure. L'extrait a été dilué par la suite avec 07ml d'eau distillée dans une fiole jaugée puis filtrée sur papier filtre. 03ml du filtrat ont été dilués avec un volume égal d'eau distillée. 0,3ml d'une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (1N) ont été ajoutés au mélange et la solution a été laissée au repos pendant une nuit. 50ml d'acide acétique (1M) ont été par la suite ajoutés. 05minutes plus tard, 25ml de chlorure de calcium (1M) ont été ajoutés. Le mélange a été laissé au repos pendant une heure avant l'ébullition pendant une minute, suivi d'une filtration à chaud à travers un papier filtre Wattman préalablement pesé. Le papier filtre a été lavé à l'eau chaude jusqu'à ce que toutes les traces de chlorure soient éliminées. Le papier filtre avec le précipité ont été séchés à 105°C pendant 3heures et refroidis avant d'être pesés. Le poids du précipité représente le poids de la pectine soluble.

#### I.4. Dosage de la vitamine C

0,5g d'extrait brut de polysaccharides a été mélangé avec 22ml de l'eau distillée, après homogénéisation au vortex et filtration, le filtrat a été centrifugé à 5000rpm/10min, puis le surnageant a été récupéré. 02ml de ce surnageant recueillie, ont été ajoutés à 02ml d'eau distillée puis, la lecture a été effectuée à 265nm (Ayéne *et al.*, 2017).

Le standard utilisé est l'acide ascorbique.

#### I.5. Etude de la qualité nutritionnelle

##### I.5.1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

La concentration en protéines dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles est déterminée par la méthode de **Bradford (1976)**, qui est basée sur la formation d'un complexe entre le réactif de Coomassie lorsqu'il réagit avec les acides aminés hydrophobes présents dans les protéines et les acides aminés basiques, (arginine, histidine, lysine) qui absorbe entre 465 et 595nm. Le sérumalbumine bovine (SAB) est utilisé comme standard.

Pour l'étalon, 0,1mg d'extrait brut de polysaccharides a été dissous dans 10ml d'eau distillée. Pour le dosage, 200µL d'étalon a été mélangé à 02ml de bleu de Coomassie. Le mélange a été homogénéisé pendant 30secondes, après 02min de réaction et avant une heure, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde 595nm. La teneur en protéines solubles est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue à partir d'une solution de sérum albumine bovine (BSA). Les résultats sont exprimés en g BSA par 100g d'extrait.

##### I.5.2. Détermination de la teneur en protéine par Kjeldahl

La détermination de quantité des protéines a été effectuée selon la méthode de référence Kjeldahl (Figure09) (AFNOR, 1993), cette dernière se répartie en trois étapes principales :

➤ **La première étape** : c'est la minéralisation (la digestion) qui vise à dégrader la matière organique (MO) azotée sous la forme de sel d'ammonium. 01g de l'extrait brut de polysaccharide sa été introduit dans un matras de minéralisation, 15mL d'acide sulfurique pûront été versés lentement en ajoutant 02g de catalyseur (01g de  $K_2SO_4$  et 01g de  $CuSO_4$ ). La minéralisation commence, et lorsque le mélange devenu limpide, le chauffage a été réglé de manière à condenser les vapeurs d'acide vers le milieu du col du matras et poursuivre pendant au moins 30min. le matras obturé a été refroidi pour éviter un contact éventuel avec des vapeurs ammoniacales présentes dans l'atmosphère.

L'azote de différents constituants (protéique et non protéique) est converti en sulfate d'ammonium en présence du catalyseur. Le pH acide permet au sel d'ammonium d'apparaître sous sa forme acide de l'ammonium  $NH_4^+$ .

L'utilisation d'un mélange de catalyseurs permet d'avoir une minéralisation plus rapide :

-  $K_2SO_4$  permet d'élever la température d'ébullition de l'acide sulfurique de 350 à 400°C ; la minéralisation peut effectuer à ces températures sans avoir de pertes trop importantes d'acides sous forme de vapeurs.

-  $CuSO_4$  est le catalyseur de minéralisation il augmente la vitesse de la minéralisation.

➤ **La deuxième étape** : c'est la distillation de l'ammonium qui se fait par l'ajout de soude : la transformation l'ammonium sous sa forme volatile, en ammoniacque.



Le contenu du matras de minéralisation par addition de l'eau distillée jusqu'à 100ml. Après, 10ml ont été transférés vers le ballon de l'appareil à distiller (le matras) et 10ml d'eau distillée ont été ajoutés.

Alcalinisation le digestat avec 30ml de NaOH (35%), le distillat est récupéré dans un erlenmeyer de 250ml contenant 25ml d'acide borique ( $H_3BO_3$ ), ce dernier va retenir l'ammoniaque sous sa forme acide et 10gouttes d'indicateur de tashiro, après l'apparition de la couleur verte la titration a été appliquée.

➤ **La troisième étape : la titration**

La titration est l'étape où l'ammoniaque, fixé sous forme de borate d'ammonium est titré avec une solution d'acide chlorhydrique (0.1N).



**Figure09 :** Dispositif de Kjeldahl (dispositif de minéralisation, dispositif de distillation)

La teneur en azote totale est exprimée en gramme par 100g d'extrait.

$$NT\% = 14 \times V_s \times N \times 100 / m$$

**Avec :**

$V_s$  : Volume HCl nécessaire pour titrer la solution de l'échantillon ;

$N$  : Normalité HCl (0.1N) ;

$m$  : La masse de l'échantillon en gramme ;



La teneur en protéines totales est calculée en multipliant par 6.024 la teneur en azote obtenue selon cette méthode :

**Taux protéines (g/100g) : NT (%) x 6.024**

**6.024** : facteur protéique (facteur de conversion).

### I.5.3. Dosage des sucres totaux

Les sucres simples, les oligosaccharides, les polysaccharides et leurs dérivés, ayant une fonction réductrice libre ou potentiellement libre donnent une coloration jaune orange quand ils sont traités avec le phénol et l'acide sulfurique concentré, la méthode de **Dubois et al., (1956)**, repose sur cette réaction pour quantifier les glucides et leurs dérivés méthyles, ces

derniers sont déshydratés en milieu acide sulfurique à chaud en dérivés du furfural qui se combinent avec le phénol et donnent une coloration jaune orange.

0,1g de l'extrait brut de polysaccharides a été mélangé à 20ml d'eau distillée, le tout est bien mélangé pour bien solubiliser les sucres dans l'eau. Le dosage a été réalisé à partir de 200µl de la solution précédente, additionnée de 200µl de phénol 5% et de 01ml d'acide sulfurique concentrée, le tout a été mélangé au vortex.

Après un repos de 10min, les tubes sont été placés dans un bain-marie à une température de 30°C pendant 15min, l'absorbance a été déterminée directement par spectrophotomètre à la longueur d'onde 490nm.

La quantification des sucres a été réalisée grâce à une courbe d'étalonnage établie à partir d'une solution mère de glucose à 01g/l et qui s'étend de 0µg/ml à 100µg/ml (= 0 à 100mg/l). Les résultats sont exprimés en g d'équivalent glucose par 100g d'extrait.

#### I.5.4. Dosage des sucres solubles

L'extraction des sucres solubles a été effectuée selon la méthode décrite par **Kader et al., (1993)**. Cette méthode consiste à mélanger une quantité de 0.1g de l'extrait brut de polysaccharides avec 15ml d'éthanol 80%. La solution a été incubé à 95°C durant 15minutes après refroidissement, le mélange a été filtré et centrifugé à 5000rpm/10min. Le surnageant a été récupéré pour le dosage selon la méthode de **Dubois et al., (1956)**. 0, 3ml du surnageant a été dilué et mélangé avec un même volume de phénol 5% (p/v) et 1.5ml d'acide sulfurique concentré. Après une période d'incubation de 05minutes du mélange à 105°C, suivi d'un refroidissement à l'obscurité pendant 30min, l'absorbance a été mesurée à 490nm.

La concentration en sucres solubles a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue avec une solution de glucose. Les résultats sont exprimés en gramme d'équivalent glucose par 100g d'extrait.

#### I.5.5. Dosages des oses neutres (ON)

La quantification des oses constitutifs de l'extrait brut des polysaccharides s'effectue essentiellement par des dosages colorimétriques. C'est en présence d'acide sulfurique, concentré et à chaud que les liaisons glycosidiques des polysaccharides subissent une hydrolyse quantitative. La déshydratation des unités osidiques libérées conduit à la formation des dérivés fur uriques par condensation des composés phénoliques tels que le résorcinol pour le dosage des ON (**Monsigny et al., 1998**). Les dérivés de furfural se condensent avec le résorcinol en milieu acide pour donner un complexe brun-orange dont l'absorbance est mesurée à 480nm.

La solution de résorcinol a été préparée à 0,3mg dans 50ml d'eau distillée et stockée à 04°C pendant 04 semaines. Une gamme étalon de glucose a été préparée de 0 à 0,10g/l. Dans les tubes de dosage a été ajouté 200µld'échantillon (1mg de l'extrait brut des polysaccharides a été dissous dans 10 ml d'eau distillé) avec 200µl de la solution de résorcinol et 01ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 80%. Les tubes ont été agités puis maintenus dans un bain-marie sec à 80°C pendant 30min, après retour à température ambiante à l'obscurité pendant 30min, l'absorbance est mesurée à 480nm (**Rjeibi et al., 2019**).

La concentration en sucres neutres a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue avec une solution de glucose. Les résultats sont exprimés en gramme d'équivalent glucose par 100g d'extrait.

### I.5.6. Acides aminés libres

La détermination colorimétrique de la teneur en acides aminés est basée sur la réaction avec la ninhydrine.

En effet, les acides aminés subissent une désamination oxydative en milieu acide et à chaud et l'ammoniaque libéré se condense avec la ninhydrine réduite pour donner le dicetohydrindylidenedicetohydrindamine (DYDA) de couleur pourpre. L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la quantité d'acides aminés dans l'extrait (**Yemm et Cocking, 1955**).

Les acides aminés ont été extraits selon la méthode d'**Omokolo et al., (2002)**. Brièvement, 15ml de l'éthanol (80%) ont été additionnés à 0.1g de l'extrait brut de polysaccharides puis incubé dans un bain-marie à 95°C pendant 15minutes, après refroidissement, le mélange a été filtré et centrifugé à 5000rpm. Puis le surnageant a été récupéré. Le dosage par la suite des acides aminés libres a été effectué selon la méthode décrite par **Yemm et Cocking, (1955)** ; 0.5ml d'extrait de polysaccharides a été ajouté 0.5ml de tampon citrate (0.2mol/l, pH=5), 1ml de KCN (0.01mol/l) et 0.2 ml de ninhydrine (1%). Le mélange réactionnel a été chauffé au bain-marie pendant 15min à 95°C, après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 570nm après ajout de 2.3ml d'éthanol 60%.

## I.6. Etude des propriétés anti-oxydantes

Plusieurs méthodes ont été utilisées afin de déterminer les propriétés anti-oxydantes des polysaccharides.

### I.6.1. Activité anti-radicalaire au DPPH

L'activité de DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par **Blois (1958)**. 04mg de l'extrait brut de polysaccharides ont été dissoutes dans 500µl de méthanol et 500µl d'eau ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour l'extrait avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125µg/ml.

Dans une microplaque à 96 puits, 160µl de la solution méthanolique de DPPH (06mg de DPPH dans un volume de 100ml de méthanol) préparée préalablement et 40µl de différentes concentrations de chaque échantillon ont été mélangées.

Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en ajoutant 40µl du méthanol à 160µl de la solution méthanolique de DPPH. L'incubation dure 30minutes à température ambiante, puis l'absorbance est mesurée à 517nm. L' $\alpha$ -Tocophérol, BHA (Butyl Hydroxy Anisole) et le BHT (Butyl Hydroxy Toluene) sont utilisés comme standards antioxydants.

Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire de DPPH a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}} / A_{\text{Contrôle}})] \times 100$$

### I.6.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

Ce test a été déterminé selon la méthode de **Re et al (1999)**, avec une légère modification. Le radical ABTS<sup>•+</sup> est produit par l'oxydation de l'ABTS (7mM), par le persulfate de potassium (2,4mM). Le mélange a été conservé durant 16heures à l'obscurité à température ambiante). L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à  $7.00 \pm 0.020$  par l'éthanol à 734 nm.

Une quantité de 04mg de l'extrait brut de polysaccharides a été dissoute dans 500µl de méthanol et 500µl d'eau. À partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour l'extrait avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125µg/ml.

Dans une microplaque à 96puits, un volume de 160µl de l'ABTS<sup>•+</sup> ont été ajoutées à 40µl de différentes concentrations de l'extrait étudié.

Pour le blanc un volume de 40µl de méthanol et 160µl d'ABTS<sup>•+</sup> a été mis dans les derniers puits de la plaque. Après 10 minutes d'incubation à température ambiante ; l'absorbance a été mesurée à 734nm.

Les différents pourcentages d'inhibition ont été calculés selon la formule suivante :

$$ABTS (\%) = (A_{contrôle} - A_{échantillon} / A_{contrôle}) \times 100$$

### I.6.3. Activité du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

L'activité du pouvoir réducteur a été déterminée par **la méthode d'Oyaizu (1986)**, une quantité de 4mg de l'extrait a été dissoute dans 500µl de méthanol et 500µL d'eau distillé ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour l'extrait avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125µg/ml.

10µl des différentes concentrations d'extrait ont été déposées dans chaque puits avec 40µl du tampon phosphate 0.2M (pH =6.6) et 50µl de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) à 1%. L'ensemble a été incubé à l'étuve à 50°C pendant 20min.

Ensuite, 50µl d'acide tri-chloroacétique (TCA) à (10%) sont été ajoutés pour stopper la réaction.

Enfin, un volume de 40µl d'eau distillée et 10µl d'une solution de chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ) à (0,1%) ont été ajoutés. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par le méthanol.

Le contrôle positif est représenté par deux solutions d'antioxydants standards ; l'acide ascorbique et l'α-tocophérol dont, l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que l'extrait.

Les résultats ont été calculés à titre d' $A_{0,50}$  (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

### I.6.4. Activité nanoparticules d'argent (SNP)

L'activité des nanoparticules d'argent (SNP) a été déterminée par **la méthode d'Oyaizu (1986)**. Les SNP ont été préparés en utilisant la méthode de réduction chimique qui employait du citrate trisodique comme stabilisateur coiffé sur la surface du SNP.

Dans cette méthode, 50ml d'AgNO<sub>3</sub> (1,0mM) ont été portés à ébullition pendant 10minutes. Pour cette solution, 5ml de citrate trisodique à 1% ont été ajoutés goutte à goutte. Pendant le

processus, la solution a été mélangée vigoureusement. La solution a été chauffée jusqu'à ce que son changement de couleur soit évident (jaune pâle). Cette " solution initiale de SNP " a ensuite été retirée de l'élément chauffant et agitée jusqu'à ce qu'elle soit refroidie à température ambiante.

Une quantité de 4mg de l'extrait brut des polysaccharides a été dissoute dans 500µl de méthanol et 500µl d'eau distillée. À partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour l'extrait avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125µg/ml.

Dans une microplaque à 96puits ; Un volume de 130µl de solution SNP et 50µl de H<sub>2</sub>O ont été déposés successivement avec 20µl de différentes concentrations de chaque solution d'extrait. Une incubation est réalisée à l'obscurité à une température de 25°C pendant 30min suivie d'une lecture à 423 nm. Le Trolox a été utilisé comme standard.

#### **I.6.5. Activité de réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phénanthroline**

L'activité de réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phénanthroline a été déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniaka et al., (2008)**.

Une quantité de 4mg de l'extrait brut des polysaccharides a été dissoute dans 500µl de méthanol et 500µl d'eau distillée. À partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour l'extrait avec des concentrations de 50/ 25/ 12.5/6.25/ 3.125/ 1.5625/ 0.78125µg/ml.

Dans une microplaque à 96 puits : 10µl de l'extrait à différentes concentrations, 50µl de chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) (0.2%), 30µl de phénanthroline (0.5%) et 110µl du méthanol ont été déposés successivement. Une incubation est réalisée à l'obscurité à une température de 30°C pendant 20min. L'absorbance a été déterminée à 510nm.

Les résultats ont été calculés à titre d'A0.5 (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards.

#### **I.7. Activité Anti- (acétyl / butyryl) cholinestérase**

L'activité a été déterminée par la méthode de **d'Ellman et al., (1961)**. Il s'agit d'un protocole standard pour la détermination des thiols libres. Une quantité de 4mg de l'extrait brut des polysaccharides a été dissoute dans 500µl de méthanol et 500µl d'eau ; à partir de cette solution ; des dilutions au 1/2 ont été préparées pour l'extrait avec des concentrations de 200/100/50/25/12.5/6.25/3.125µg/ml.

Dans une microplaque à 96puits : 150µl du tampon phosphate de sodium 100mM (pH =8.0), 10µl d'extrait à différentes concentrations et 20µl d'AChE (acétylcholinestérase, 5.32×10<sup>-3</sup>U) ou BChE (Butyrylcholinestérase, 6,85×10<sup>-3</sup>U) ont été déposés.

Après une incubation dans une étuve à 25°C pendant 15min ; 10µl réactif d'EllmanDNTB (Dinitrothiocyanobenzene, 0.5mM) et 10µl de substrat (d'acétylcholine d'iode (0.71Mm) ont été ajoutés.

La lecture par spectrophotomètre à 412nm permet de déterminer l'absorbance à T0, après une incubation dans une étuve à 25°C pendant 15min, une deuxième lecture à 405nm permet de noter l'absorbance à T1.

Le pourcentage d'inhibition d'AChE enzymes est déterminé par rapport au blanc (éthanol avec le tampon phosphate, pH=8) par la formule :

$$[E-S] / E \times 100.$$

**Avec :**

**E :** L'activité de l'enzyme sans extrait ;

**S :** L'activité de l'enzyme avec extrait.

Le Galantamine est utilisé comme référence.

### **I.8. Analyses statistiques**

Les résultats des tests effectués ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de  $CI_{50}$  (Concentration d'inhibition à 50%) et de  $A_{0.5}$  (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) ont été calculées par la méthode de régression linéaire à partir des deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la  $CI_{50}$  et [Absorbance = f (concentrations)] pour la  $A_{0.5}$ .

---

---

**Chapitre II :**  
**Résultats et**  
**discussion**

---

---



## II.1. Rendement d'extraction des polysaccharides

D'après le résultat noté, il apparaît que le rendement massique de l'extrait polysaccharidique des feuilles de *C. oltorius* L est de 8.2%, ce rendement est plus élevé par rapport au rendement d'extraction de polysaccharides des feuilles de *Zizyphus lotus*, obtenus par macération dans l'eau distillée à 60°C, soit de l'ordre de 3.7% observé par **Boual et al., (2015a)**.

Tandis qu'il est inférieur à celui rapporté par **Zou et al., (2014)**, qui ont trouvés que les deux extraits de polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Terminalia macroptera* soient 0.3% et 1.3%. En revanche, ces résultats semblent inférieurs de ceux rapportés par **Khalid et al., (2008)**, des feuilles de *Piper sarmentosum*, soient de l'ordre de 9.83%.

La méthode utilisée pour l'extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *C. oltorius* L est la macération dans l'eau distillée à température de 80°C.

L'extraction par l'eau chaude présente l'avantage d'augmenter le rendement d'extraction, de minimiser l'altération de structure des polysaccharides, et de préserver au maximum ces activités biologiques (**Liu et al., 2015**).

**Akrout et al., (2010)**, ont expliqué que le rendement varie selon le type d'espèce investiguée. Dans le même type varie considérablement et dépend de l'emplacement et la séparation géographique et la saison de récolte. L'hétérogénéité des rendements d'extraction est à la fois due aux plantes concernées et aux parties analysées mais aussi au protocole d'extraction utilisé.

## II.2. Résultats de la caractérisation physico-chimiques

### II.2.1. pH et l'acidité titrable

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes de deux mesures  $\pm$  écart type.

La valeur du pH enregistrée est de  $7,9 \pm 0,02$  et la valeur de l'acidité titrable est  $8 \pm 0,04$ g AC/100g d'extrait brut des polysaccharides. Le résultat du pH est inférieur par rapport aux polysaccharides des feuilles de *Muscat d'alexandrie* (pH égal à  $6,25 \pm 0,21$ ), alors que le résultat de mesure de l'acidité titrable exprimé en g d'acide citrique/100g d'extrait est de  $26,73 \pm 1,718$ g AC/100g d'extrait est supérieur par rapport à l'extrait des polysaccharides de *C. oltorius* L (**Du et al., 2012**).

Les polysaccharides hydrosolubles des feuilles *C. oltorius* L se caractérisent par un pH neutre et une acidité importante. L'acidité élevée peut être liée à l'opération de séchage affecte positivement et le pH peut s'expliquer d'une part par la pauvreté en acides organiques et d'autre part le stade de récolte des feuilles (**Elyah, 2003**).

### II.2.2. Humidité et matière sèche

Les résultats d'humidité et de la matière sèche obtenus sont exprimés en termes de pourcentage (%).

L'humidité de polysaccharides des feuilles de *C. oltorius* L est de  $43,5 \pm 0,003\%$  et la matière sèche est  $56,5 \pm 0,003\%$ , les résultats de l'humidité et la matière sèche sont inférieurs par rapport à l'extrait brut de polysaccharides des feuilles de *Plantago notata* qui est égal à  $12,85 \pm 3,43\%$  et  $87,15\%$  respectivement (**Boual et al., 2015b**).

Cette humidité est liée à la période de stockage. Pour mieux conserver les constituants actifs de cette poudre, il serait intéressant de réaliser au préalable un séchage doux des feuilles



à l'air libre dans un endroit sombre, abrité, et bien aéré. La température ne devant pas dépasser les 37°C (Nogaret-Ehrhart, 2003).

Catier et Roux, (2007), déclarent qu'une plante mal conservée perd en partie sa valeur thérapeutique, il faut donc éliminer au cours du stockage l'action d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels : l'humidité (propice à la détérioration des principes actifs et au développement de moisissures).

Selon Delgado et al., (2011), l'augmentation de la matière sèche est causée par la perte naturelle et progressive de l'humidité tout au long de la maturation.

### II.2.3. Cendres et matière organique

Les résultats des cendres et matière organique obtenus sont exprimés en termes de pourcentage (%).

La valeur de cendre de l'extrait brut de polysaccharides des feuilles de *C. oleraceus* L est égale 16±0,028% qui sont beaucoup plus grandes que les résultats d'analyses de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Plantago notata*, montrent des valeurs moyennes de 8,33±1,05% de cendre (Boual et al., 2015b), et inférieurs par rapport aux résultats de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*Asphodelus tenuifolius* qui est égal à 23,66 ± 1,52% (Boual et al., 2011).

Tandis que la valeur de la matière organique de l'extrait brut de polysaccharides des feuilles de *C. oleraceus* L est égale 84±0,028% qui sont inférieures que les résultats d'analyses de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Plantago notata*, montrent des valeurs moyennes de 91,67±1,05% de matière organique (Boual et al., 2015b), et inférieurs par rapport aux résultats de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*Asphodelus tenuifolius* étaient de 76,34 ± 1,52% (Boual et al., 2011).

Le dosage des cendres est également un paramètre important. La cendre totale est le résidu de composés minéraux qui subsistent après la combustion d'un échantillon contenant de la matière organique d'origine végétale dans cette étude. La détermination de la teneur en minéraux éclaire également sur la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser (Audigie et al., 1984).

### II.2.4. Détermination de la Teneur en pectine

La quantité en pectine trouvée dans l'extrait a été déterminée quantitativement par des procédures standard et exprimée en moyenne ± écart type de deux déterminations et en termes de pourcentage (%).

La teneur en pectine de l'extrait brut de polysaccharides des feuilles de *C. oleraceus* L est de 8,2±0,05%, cette valeur indique une nature glucidique, d'origine exclusivement végétale. Ce sont les principaux composants de la lame médiane des parois cellulaires.

Elles sont essentiellement composées d'acides galacturoniques (Delattre, 2005). Elles forment alors un véritable ciment biologique (ciment pectique) qui rattache les cellules les unes aux autres (Prat et al., 2002). Les pectines insolubles assurent la rigidité des tissus et sont ensuite dégradées en sucres et en acides par voie enzymatique au cours du mûrissement.

### II.3. Détermination de la vitamine C

Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage établit par l'acide ascorbique (Annexe 01). La valeur de la vitamine C de l'extrait brut de polysaccharides des feuilles de *C. oleraceus* L est égale 0,018±0,02mg/100g.

La valeur de la vitamine C des feuilles de *C. oltoruis* L égale à 1,91g/100g (**Tchiégang et Kitikil, 2004**).

D'après (**Du et al., 2012**), la valeur de la vitamine C de la poudre de polysaccharides des feuilles de *Muscat d'alexendrie* n'est pas enregistrée.

La perte générale de vitamine C pendant la plupart des méthodes de séchage appliquées pourrait être attribuée d'une part, à l'oxydation de l'acide ascorbique dans les conditions de séchage à haute température, ainsi avec l'élévation de la température, les tissus végétaux commencent à se décomposer et libèrent les enzymes liés aux membranes ; l'acide ascorbique oxydase catalyse l'oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydro ascorbique. Ce dernier est un composé instable, se transforme rapidement en acide 2,3-dicéto-gluconique n'ayant aucune activité biologique (**Leong et Oey, 2012**). D'autre part, la perte peut être due à l'épuisement de ce composé en raison de son utilisation pour protéger l'oxydation des polyphénols pendant le séchage (**Toor et Savage, 2006**).

#### II.4. Étude de la qualité nutritionnelle

Les résultats obtenus sont exprimés en termes g par 100g d'extrait pour les protéines à partir d'une courbe d'étalonnage de BSA et en mg par 100g d'extrait dans les sucres totaux, les sucres solubles et les oses neutres et le glucose comme standard (**Annexe 01**). Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures  $\pm$  écart-type.

##### II.4.1. Détermination des protéines

La teneur en protéine par la méthode de Bradford dans l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles est de l'ordre de  $20,9 \pm 0,002$ mg/100g d'extrait.

**Mohammed et al., (2017)**, montrent que la teneur en protéines de polysaccharides des feuilles de *C. oltoruis* L soit de l'ordre de 0,0063g/100g.

**Singthonga et al., (2005)**, indiquent que la teneur en protéines des feuilles de l'espèce de *Cissampelos pareira*, est de l'ordre de 0,0319g/100g.

**Zou et al., (2014)**, signalent que dans deux fractions de polysaccharides des feuilles de *Terminalia macroptera* varient entre 0.002 et 0.003g/100g.

Les protéines constituent avec les composés phénoliques, les principaux composés liés aux polysaccharides (**Godin et al., 2011**).

La teneur en protéine par la méthode de Kjeldahl dans l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles est de l'ordre de 1,68 g/100g d'extrait.

**Anin et al., (2012)**, indiquent que les résultats obtenus de la teneur en protéines sont variés selon la méthode de dosage utilisé.

##### II.4.2. Détermination des sucres totaux

Le taux des oses totaux dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *C. oltoruis* L est égal  $52,4 \pm 0,006$ mg/100g.

**Seddiki et al., (2017)**, qui montrent que la teneur en oses totaux de polysaccharides des feuilles de *Zygodhylum album* soit de l'ordre de 0,497g/100g.

**Boual et al., (2013)**, montrent que le taux des oses totaux dans les polysaccharides hydrosolubles de feuilles de *Malva parviflora*, est 0,68g/100g.

**Kong et al., (2010)**, pour les différentes fractions des polysaccharides hydrosolubles de l'espèce de *Litchi chinensis*, varient entre 0,79 et 0,96g/100g.

#### II.4.3. Détermination des sucres solubles

Le taux des oses solubles dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *C. olitorius* L est égal  $252 \pm 0,004$ mg/100g.

**Sáenz et al., (2004)**, montrent que le pourcentage des polysaccharides de figue de barbarie est  $0,87 \pm 0,01$ g/100g.

Selon **Sáenz et al., (2004)**, la composition chimique des polysaccharides hydrosolubles issus des feuilles varie suivant diverses conditions telles que l'environnement climatique, la localisation, l'origine géographique et la période de récolte.

#### II.4.4. Détermination des oses neutres (ON)

Le taux des oses neutres enregistré est de l'ordre de  $89,6 \pm 0,01$  mg/100g.

**Boual et al., (2013)**, signalent que le taux des oses neutres dans les polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parviflora* est de  $0,55 \pm 0,02$ g/100g.

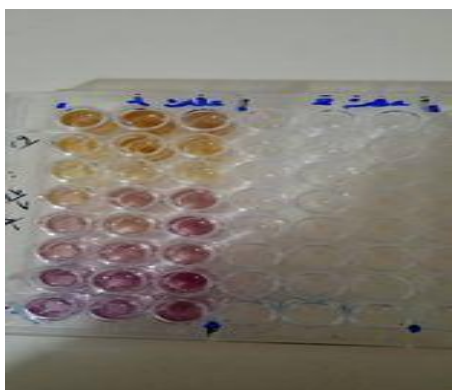
**Seddiki et al., (2017)**, montrent que l'extrait brut de polysaccharides des feuilles de *Zygophyllum album* L est  $0,38 \pm 0,01$ g/100g.

### II.5. Etude des propriétés anti-oxydantes

L'activité anti-oxydante de l'extrait brut de polysaccharides des feuilles a été déterminée par les méthodes suivantes : dosage des radicaux libres DPPH, activité ABTS, activité nanoparticule d'argent (SNP), phénolroline et FRAP.

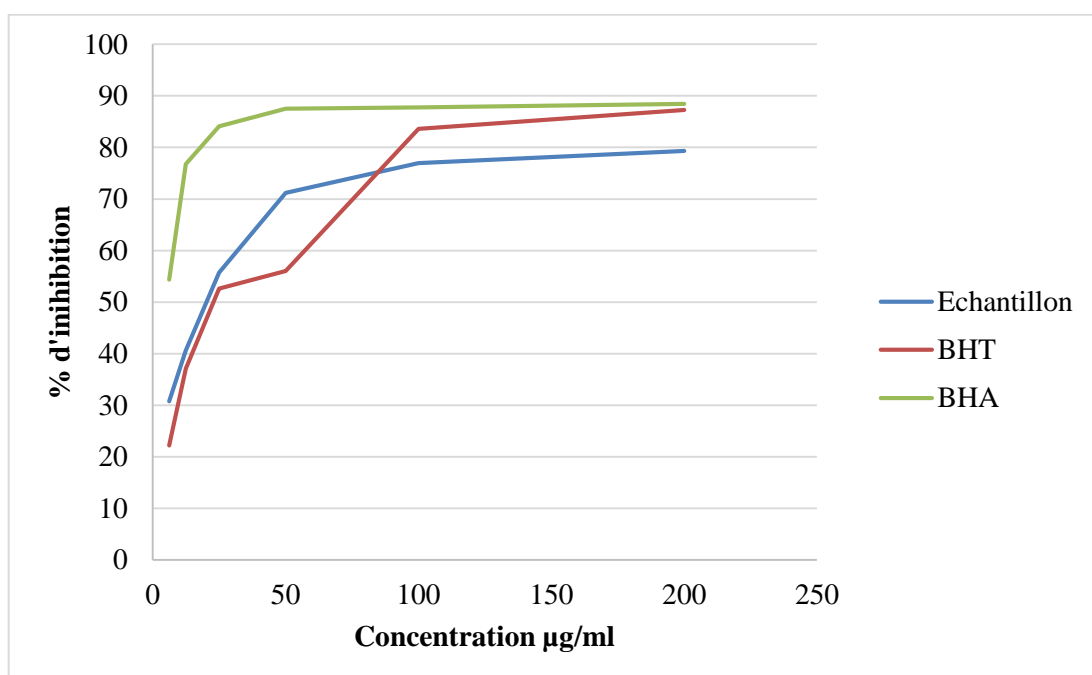
#### II.5.1. Activité anti-radicalaire DPPH

Le taux de réduction du DPPH et fournit un moyen pratique pour mesurer le pouvoir antioxydant d'extrait (Figure 10).



**Figure 10** : Profil de la microplaquette du dosage de l'activité anti-radicalaire du DPPH.

Les résultats obtenus du test d'inhibition du DPPH, nous permettent de tracer la courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration pour l'extrait brut des polysaccharides (EBPOLY), BHA et BHT (Figure 11) (**Annexe 02**).



**Figure 11** : Courbe représentant les variations du pourcentage de piégeage du radical libre DPPH de l'EBPOLY, BHA et BHT.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'échantillon testé ainsi que pour les standards BHT et BHA.

Les résultats de l'activité anti-oxydante par le radical libre DPPH de EBPOLY exprimés en µg/ml sont présentés dans le tableau (04).

**Tableau 04** : Concentrations inhibant 50% (CI<sub>50</sub>) de l'activité du piégeage du radical DPPH.

| Extrait et standards | CI <sub>50</sub> (µg/ml) |
|----------------------|--------------------------|
| <b>EBPOLY</b>        | 25.2± 0,19               |
| <b>BHT</b>           | 22.32±1.19               |
| <b>BHA</b>           | 5.73±0.41                |

Le pourcentage d'inhibition est l'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres (**François, 2010**).

L'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité anti-oxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50% (**Laib et al., 2011**).

On remarque que EBPOLY a montré une activité du radical DPPH ( $IC_{50}=25.2\pm 0.19\mu\text{g/ml}$ ) égalable à BHT ( $IC_{50}= 22.32\pm 1.19\mu\text{g/ml}$ ) et 4 fois plus faible que celle de BHA ( $IC_{50}= 5.73\pm 0.41\mu\text{g/ml}$ ).

**Li et al., (2017)**, ont trouvé une valeur d' $IC_{50}$  de 3.72mg/ml en étudiant l'effet antioxydant des feuilles de *Lepidium meyenii*, ce qui est inférieur au pouvoir antioxydant de l'espèce *C. olitorius* L.

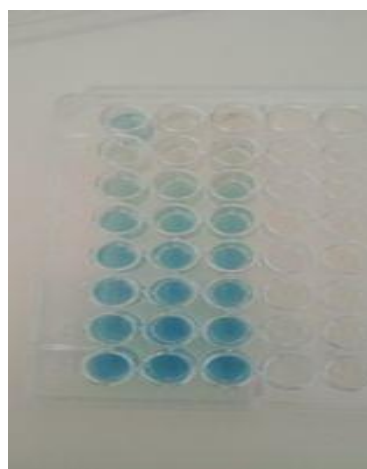
**Caicai et al., (2018)**, ont montré que les polysaccharides des feuilles de *Lepidium meyenii* montrent une valeur d' $IC_{50}$  de l'ordre de 1.11mg/ml.

Il est rapporté que de nombreux facteurs influent sur l'activité anti-oxydante des polysaccharides, y compris la composition en monosaccharide, le poids moléculaire et la conformation de la chaîne. De ce fait, en raison de diverses caractéristiques structurales, les polysaccharides de diverses origines présentent une activité anti-oxydantes différent (**Li et al., 2017**).

### II.5.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

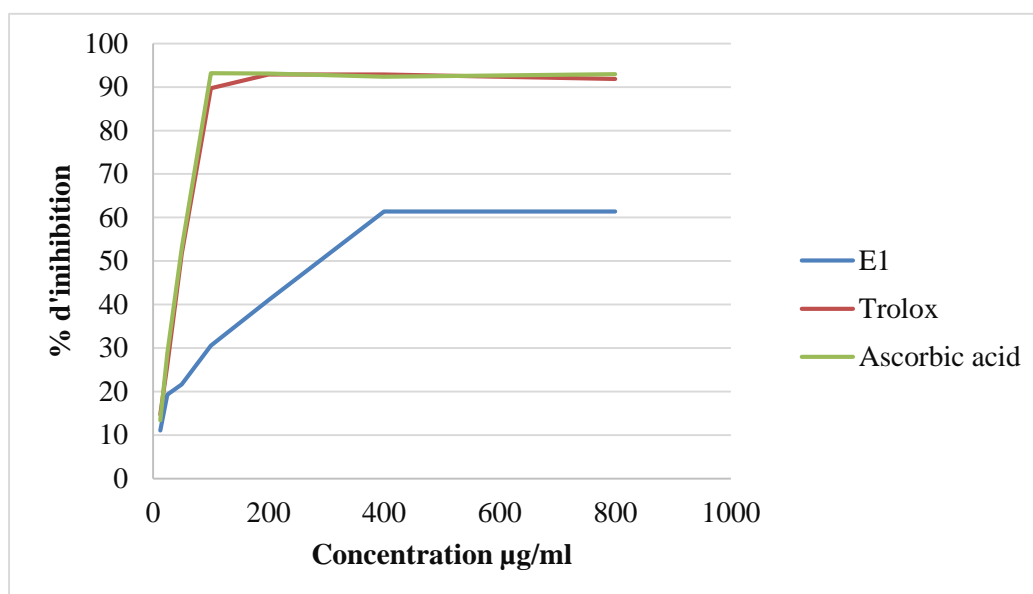
En réagissant avec le persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ), l'ABTS, forme le radical ABTS<sup>•+</sup> de couleur bleue (à verte). L'ajout d'antioxydant va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange qui est mesurée par spectrophotométrie à 734nm.

La disparition de la coloration bleue est proportionnelle à la capacité d'inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup> (Figure 12).



**Figure 12** : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti-radicalaire de l'ABTS.

Après avoir mesuré l'absorbance à 734nm, les résultats enregistrés ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition de l'EBPOLY des feuilles de *C. olitorius* L et de tracer la courbe de variation en fonction de la concentration pour l'extrait étudié, Trolox et l'Acide ascorbique (Figure 13) (**Annexe 02**).



**Figure 13** : Courbe représentant les variations du pourcentage de piégeage du cation radical ABTS de l'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique.

Il semble que les pourcentages d'inhibition du cation radical ABTS augmentent avec l'augmentation de la concentration de l'échantillon testé puis se stabilise, ainsi que pour les standards Trolox et l'Acide ascorbique.

Les résultats de l'activité anti-oxydante par cation radical ABTS de l'extrait étudié exprimés en µg/ml sont présentés dans le tableau (05).

**Tableau 05** : Concentrations inhibant 50% (CI<sub>50</sub>) de l'activité du cation radical ABTS.

| Extrait et standards | CI <sub>50</sub> (µg/ml) |
|----------------------|--------------------------|
| EBPOLY               | 314,96±11,15             |
| Acide ascorbique     | 3,04± 0,05               |
| Trolox               | 3,21±0,06                |

D'après les résultats nous constatons que la concentration d'inhibition de l'ABTS est 100 fois plus faible que les standards Trolox et acide ascorbique égal à 3,21±0,06µg/ml et 3,04±0,05µg/ml respectivement. Le test a montré que l'extrait brut des polysaccharides possède un potentiel de piégeage du radical ABTS<sup>+</sup> faible. Ce pouvoir est confirmé par la valeur d'IC<sub>50</sub> élevé (314,96±11,15).

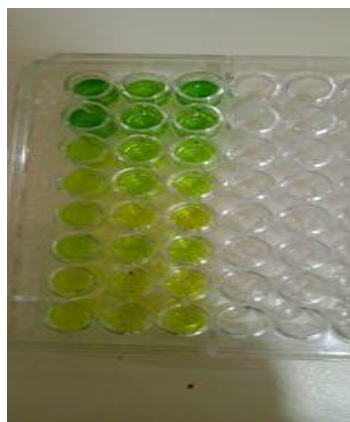
En comparant ces résultats avec ceux de la littérature, (**Dammak et al., 2022**) qui ont indiqué que l'extrait brut des polysaccharides de *Ceratonia siliqua* L possède une concentration d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> correspondant à 0,01mg/ml. Ce résultat est inférieur par rapport à l'extrait brut des polysaccharides de *C. olitorius* L (314,96µg/ml donc 0,314mg/ml).

Les résultats d'extrait brut des polysaccharides de *C. olitorius* L est inférieur par rapport aux résultats obtenus par **Mzoughi et al., (2021)** qui ont démontré que la valeur d'IC<sub>50</sub> de l'extrait des polysaccharides du quinoa était de 1,1mg/ml.

(**Soua et al., 2020**), ont indiqué que la valeur d'IC<sub>50</sub> de l'extrait des polysaccharides du *Ephedra alata* égal à 3.2mg/ml. Cette valeur est la plus grande de tous les travaux précédents.

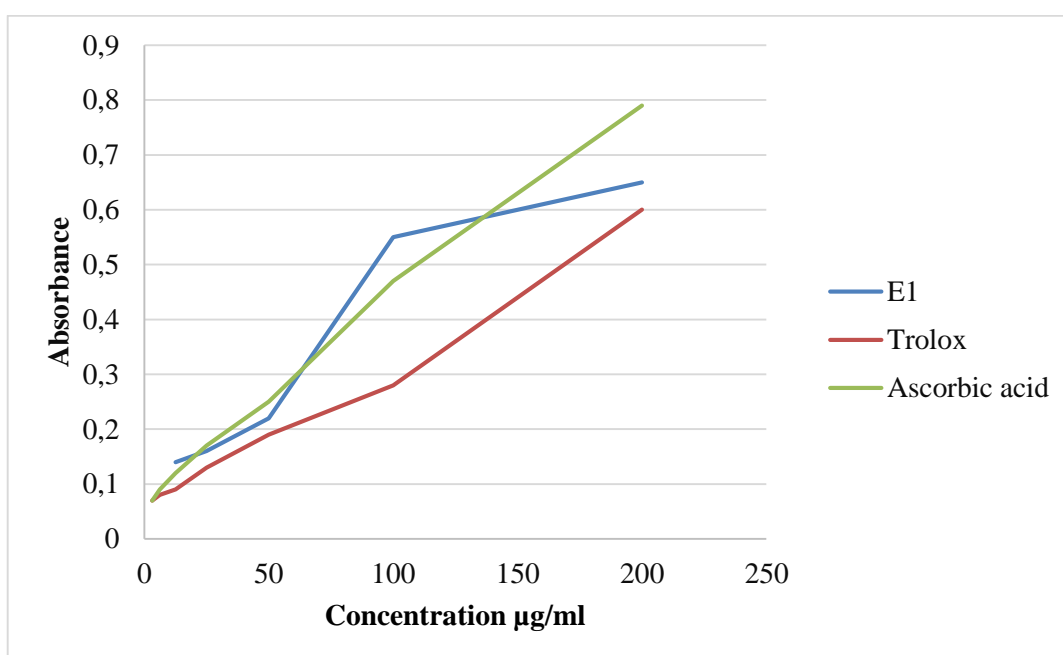
### II.5.3. Activité du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Le  $\text{Fe}^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700nm (Figure 14) (Chung, 2002).



**Figure 14** : Profil de la microplaque du test de pouvoir réducteur FRAP.

Les résultats obtenus du test de pouvoir réducteur (FRAP), nous permettent de tracer la courbe de variation d'absorbance en fonction de la concentration pour l'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique (Figure 15) (Annexe 02).



**Figure 15** : Courbes représentant les variations de l'activité anti-oxydante par pouvoir réducteur (FRAP) de l'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique.

Il semble que l'absorbance a augmenté avec l'augmentation de la concentration de l'échantillon testé ainsi que pour les standards trolox et l'acide ascorbique. Les résultats de l'activité anti-oxydante par le pouvoir réducteur (FRAP) d'EBPOLY exprimés en  $\mu\text{g/ml}$  sont présentés dans le tableau (06).



**Tableau 06** : Réduction du fer par la méthode FRAP.

| Extrait et standards | A <sub>0,5</sub> (µg/ml) |
|----------------------|--------------------------|
| L'extrait            | 99,67±0,24               |
| Trolox               | 5.25±0.20                |
| Acide ascorbique     | 3.62±0.29                |

A<sub>0.50</sub> : La concentration à l'absorbance 0,5

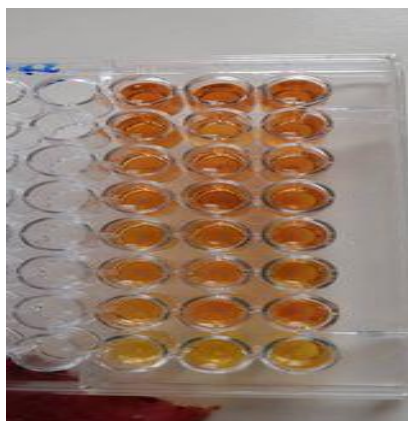
À partir de ces résultats, nous remarquons que les valeurs d'A<sub>0,5</sub> d'extrait brut des polysaccharides est 99,67±0,2µg/ml, cette valeur est 27 fois plus faible à celle de l'acide ascorbique (3.62±0.29µg/ml) et 19 fois que Trolox (5.25±0.20µg/ml).

**Soua et al., (2020)** qui ont montré que l'activité du pouvoir réducteur de Fe<sup>3+</sup> de l'extrait brut des polysaccharides d'*Ephedra alata* égal à 10 mg/ml. Cette valeur est supérieure par rapport à l'extrait brut des polysaccharides de *Hibiscus cannabinus* L qui est égale à 0.864mg/ml (**Birhanie et al., 2021**).

Certains auteurs ont observé une corrélation directe entre l'activité anti-oxydante et le pouvoir réducteur des polysaccharides, en effet cette activité anti-oxydante s'explique par la présence de nombreux groupes hydroxyles libres dans la structure des polysaccharides. En outre, (**Wu et Hu, 2014**), ont rapporté que la présence d'arabinose dans la structure des polysaccharides pourrait réduire la production de radicaux hydroxyles par chélation du Fe<sup>2+</sup> (pro-oxydant).

#### II.5.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe<sup>+2</sup>-phénantroline

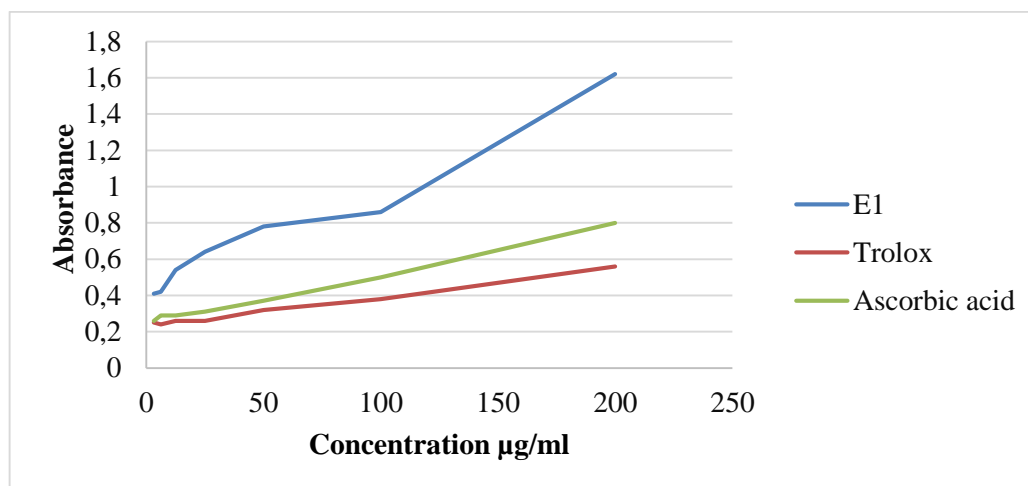
Les résultats obtenus indiquent qu'il y a un changement de la couleur du milieu réactionnel du jaune au rouge-orangée, ce qui montre qu'il présente une capacité anti-oxydante (Figure 16).



**Figure 16** : Profil de la microplaque du dosage de l'activité phénanthroline.

Les résultats obtenus de l'activité de réduction du fer, nous permettent de tracer la courbe de variation d'absorbance en fonction de la concentration pour l'EBPLOY, Trolox et l'Acide ascorbique (Figure 17) (**Annexe 02**).





**Figure 17:** Courbes représentant les variations de l'activité anti-oxydante de réduction du fer par phénanthroline de l'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique.

L'analyse des résultats manifestent une proportionnalité entre les absorbances d'échantillon et leurs concentrations respectives. Plus l'absorbance est élevée, plus l'activité phénanthroline est importante.

Les résultats de l'activité anti-oxydante par réducteur d'EBPOLY exprimés en µg/ml sont présentés dans le tableau (07).

**Tableau 07 :** Réduction du fer par la méthode phénanthroline.

| Extrait et standards    | $A_{0,5}$ (µg/ml) |
|-------------------------|-------------------|
| <b>EBPOLY</b>           | 10,52±1,11        |
| <b>Trolox</b>           | 5.21±0.27         |
| <b>Acide ascorbique</b> | 3.08±0.02         |

$A_{0,5}$  : La concentration à l'absorbance 0,5

Ces résultats montrent que l'EBPOLY a indiqué une activité de réduction du fer avec ( $A_{0,5}$ = 10,52±1,11µg/ml), l'activité est deux fois inférieure à celle du Trolox ( $A_{0,5}$ = 5.21±0.27µg/ml) et trois fois plus faible que l'acide ascorbique ( $A_{0,5}$ = 3.08±0.02µg/ml).

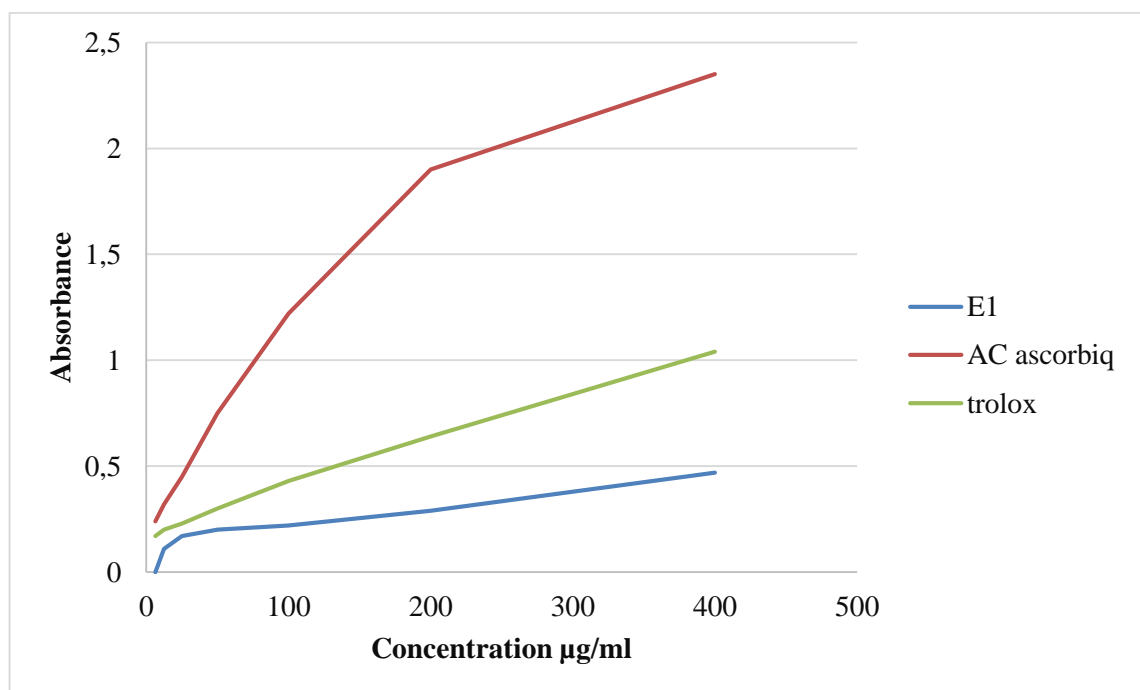
### II.5.5. Activité nanoparticules d'argent (SNP)

Après un temps d'incubation en présence d'extrait des polysaccharides et du témoin positif, une couleur marronne apparait dans certains puits, l'intensité de la couleur reflète le pouvoir antioxydant (Figure 18).



**Figure 18 :** Profil de la microplaque du dosage de l'activité SNP.

La figure 19, montre que l'absorbance augmente avec l'augmentation de la concentration de l'échantillon testé, puis elle se stabilise, ainsi que pour les standards Trolox et l'acide ascorbique la courbe a continué son augmentation (**Annexe 02**).



**Figure 19 :** Courbe représentant les variations de l'activité des nanoparticules d'argent (SNP) de l'EBPOLY, Trolox et l'Acide ascorbique.

Les résultats de l'activité anti-oxydante par détermination des nanoparticules d'argent (SNP) de *C. oliorius*L exprimés en µg/ml sont présentés dans le tableau (08).

**Tableau 08** : détermination des nanoparticules d'argent par test SNP

|                                   |                                |
|-----------------------------------|--------------------------------|
| <b>L'extrait et les standards</b> | <b>A<sub>0,5</sub> (µg/ml)</b> |
| <b>L'extrait</b>                  | <b>&gt;400</b>                 |
| <b>Acide ascorbique</b>           | <b>7.14±0.05</b>               |
| <b>Trolox</b>                     | <b>34.17±1.23</b>              |

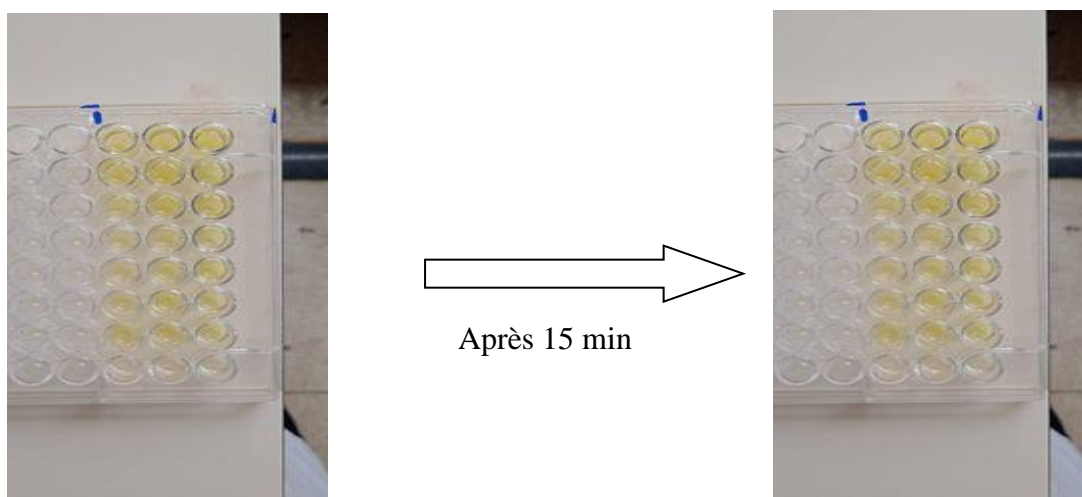
A<sub>0,5</sub> : La concentration à l'absorbance 0.5

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait brut des polysaccharides a indiqué une activité nanoparticule d'argent =400µg/ml, 11 fois plus faible à celle du trolox (34.17±1.23µg/ml.) et 57 fois que l'acide ascorbique (7,14±0,05µg/ml).

### II.6. Activité anti-acétylcholinestérase (anti-Alzheimer)

Aucune activité a inhibé l'enzyme acétylcholinestérase n'a été observée pour l'extrait de la plante étudié. L'absence de la capacité a inhibé l'acétylcholinestérase chez l'extrait peut être due à une absence d'inhibiteurs.

Les résultats obtenus indiquent qu'il n'y a pas un changement de la couleur du milieu réactionnel après 15min (Figure 20).



**Figure 20** : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti-acétylcholinestérase.

---

---

# **Conclusion**

---

---

Avec le développement et l'intérêt croissant des matériaux et molécules bio-sources, de nombreuses recherches sont menées sur l'identification de nouvelles sources de molécules végétales, en particulier les molécules actives des plantes. Depuis des milliers d'années, les plantes médicinales ont été utilisées à des fins thérapeutiques pour traiter naturellement toute une variété de maladies. Cette propriété a été confirmée par des recherches scientifiques modernes qui ont assuré leur efficacité grâce à leur richesse en métabolites secondaires.

Notre étude est basée sur l'isolement des macromolécules pariétales (polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *C. olitorius* L récoltées dans la région de Biskra) et l'évaluation des paramètres physicochimiques, les dosages spectrophotométriques afin d'en estimer le potentiel poly-phénolique, la teneur en différents nutriments (sucres, protéines, vitamine C) et les métaux lourds. L'activité anti-oxydante de l'extrait de la plante est réalisée par le test de piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur du fer par la méthode de FRAP, l'activité anti-radicalaire ABTS, l'activité de la réduction du fer par la méthode phénantroline et la détermination des nanoparticules d'argent SNP et enfin, nous avons procédé à une évaluation de l'activité anti-acétylcholinestérase (anti-Alzheimer).

Pour l'extraction et l'isolement de polysaccharides à partir des feuilles de *C. olitorius* L, nous avons utilisé l'eau chaude à 80°C pendant 02h, après une précipitation par d'éthanol à 96% à 04°C pendant 24h, enfin un lavage par l'acétone pour obtenir l'extrait brut de polysaccharides des feuilles, exprimant un rendement de 8,2%.

Les résultats obtenus des paramètres physicochimiques sont, le pH  $7,9 \pm 0,02\%$ , l'acidité titrable  $8 \pm 0,04\%$ , humidité  $43,5 \pm 0,003\%$ , matière sèche  $56,5 \pm 0,003\%$ , cendre  $16 \pm 0,028\%$ , matière organique  $84 \pm 0,028\%$  et pectine  $8,2 \pm 0,05\%$ .

La série des dosages spectrophotométriques utilisés nous a approchés sur leurs compositions biochimiques de l'extrait polysaccharidique, qui révèle des protéines  $20,9 \pm 0,002\text{mg EBSA}/100\text{g}$ , la teneur en sucres solubles  $252 \pm 0,004\text{mg EGLU}/100\text{g}$ , les oses neutres  $89,6 \pm 0,01\text{mg EGLU}/100\text{g}$ , la teneur en sucres totaux  $52,4 \pm 0,006\text{mg EGLU}/100\text{g}$  et la vitamine C  $0,018\text{mg}/100\text{g}$ .

Les tests de l'activité anti-oxydantes de l'extrait brut des polysaccharides montrent que  $IC_{50}$  de DPPH et ABTS égale à  $25 \pm 0,19\mu\text{g}/\text{ml}$  et  $314,96 \pm 11,15\mu\text{g}/\text{ml}$  respectivement et  $A_{0,5}(\mu\text{g}/\text{ml})$  de FRAP, phénantroline égale à  $99,61 \pm 0,24\mu\text{g}/\text{ml}$  et  $10,52 \pm 1,11\mu\text{g}/\text{ml}$  respectivement, le SNP à un  $A_{0,5} > 400\mu\text{g}/\text{ml}$  ainsi que l'absence d'activité Anti-acétylcholinestérase.

Les résultats de ce travail ne représentent qu'une étape d'initiative pour la caractérisation structurale et l'étude des activités anti-oxydantes de polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *C. olitorius* L comme première tentative d'introduction de polysaccharides extraits des feuilles dans l'industrie agro-alimentaire.

---

---

# **Références bibliographiques**

---

---

## Références Bibliographiques

---

- Abou-Farrag H., Abdel-N A., Abou-G H., Osman H. (2013). Physicochemical & Technological Studies on Some Local Egyptian varieties of Fig (*Ficus carica* L.). Alexandria Science Exchange Journal, 34(2) : 189-203.
- AFNOR, (1993) NFV04-210. Recueil des normes françaises. Contrôle de qualité des produits alimentaires : Lait et produit laitier. Analyse physico-chimique. 4<sup>ème</sup> Ed : la défense, 562.
- Akrout A, El jani H, Amouri S, Neffati M. (2010). Screening of antiradical & antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba-alba* Asso. & *Thymus capitatus* Hoff et Link. Growing wild in the southern of Tunisia. Journal of Recent Research Science & Technology, 2: 29-39.
- Alam M.N., Bristi N.J., Rafiquzzaman M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal .21 : 143-152.
- Ali H., Houghton P., Soumyanath A. (2006).  $\alpha$ -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes ;with particular reference to *Phyllanthus amarus*. Journal of Ethnopharmacol, 107: 449-455.
- Ali-Shtayeh M. S., Jamous R. M., Abu Zaitoun S Y., Qasem I. B. (2014). In-vitro screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of extracts from Palestinian indigenous flora in relation to the treatment of Alzheimer's disease. Functional Foods in Health and Disease. 4(9) : 381-400.
- Anin L., Kouadio., Kouamé C. (2012). Evaluation de la composition nutritionnelle des légumes feuilles. Journal of Applied Biosciences, 51: 3567– 3573.
- AOAC. (1998). Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> edition The Association of Official Analytical Chemists. 4th Revision, AOAC International, Gaithersburg MD, methode 943.02.
- Audigie C, Figarella J, Zonszain F. (1984). Manipulations d'analyse biochimique. Ed. Doin, Paris, pp 3-4
- Ayéna T., Aggassounon D.T., Anago E., Mensah G.A., & Agbangla C. (2017). Composition en vitamines et en minéraux des graines de *Pterocarpus santalinoides* L'Her. Ex De. (Papilionoideae), une plante alimentaire et médicale de l'Afrique de l'Ouest. Tropicultura, 35(1) :61-69.
- Benhammou N., Bekkara F.A., Coustard, J.M. (2009). Antioxidant activity of methanolic and water extracts from *Marrubium deserti* (De Noë) and *Thymelaea microphylla* from Algerian Sahara. Advances in Food Sciences. 31, 194p.
- Birhanie Z., Xiao A., Yang D., Huang S., Zhang C., Zhao L., Deng Y. (2021). Polysaccharides, total phenolic, & flavonoid content from different kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) genotypes and their antioxidants and antibacterial properties. Plants, 10(9), 1900.
- Blois M. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 4617 (181) : 1119-1200.
- Bolus L. (2002). Flora of Egypt. Al Hadara Publishing, Cairo, Egypt, 5:296-299.
- Bonnet P. (2015). *Corchorus olitorius* (PROTA). Plant Resources of Tropical Africa 1(529):1-2.

## Références Bibliographiques

---

- Boual Z., Chouana T., Kemassi A., Hamid Oudjana A., M. Daddi B., Michaud P. Ould El Hadj MD. (2011). Caractérisation partielle de polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*Asphodelus tenuifolius*cavan (liliaceae) : effet pré-biotique des oligosaccharides issus de l'hydrolyse des polysaccharides. Algerian Journal of Arid Environment "AJAE", 1(2) : 52-60.
- Boual Z., Kemassi A., Hamidoudjana A., Michaud P., Ould el hadj M. (2013). Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parvifloral*. (Malvaceae) : Activité prébiotique. Lebanese Science Journal, 14 : 41-51.
- Boual Z. (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. Thèse de doctorat en Biologie. Université Kasdi Merbah Ouargla. 159.
- Boual Z., Kemassi A., Chouana T., Michaud M., Ould el hadj M. (2015a). Chemical characterization & prebiotic effect of water-soluble polysaccharides from *Zizyphus lotus* leaves (*Rhamnaceae*). International scholarly & scientific research & innovation, 12 : 1-4.
- Boual Z., Chouana T., Kemassi A., Hamid Oudjana A., Daddi B., Michaud P. Ould El Hadj M. (2015b). Étude physicochimique et biologique des polysaccharides hydrosolubles de *Plantago notata* L agasca (Plantaginaceae). Phytothérapie, 13 :396-402.
- Bousbia N. (2011). Extraction des huiles essentielle riches en anti-oxydants a partir de produits naturels et de Co- produit Agroalimentaire. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, chimie , Alger ,79P.
- Bradford M. (1976). A rapid & sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteinutilizing the principle of protein-dyebinding. Analytical Biochemistry. (72) : 248-254.
- Caicai K., Limin H., Liming Z., Zhiqiang Z., Yongwu Y. (2018). Isolation, purification & antioxidant activity of polysaccharides from the leaves of maca (*Lepidium meyenii*). International Journal of Biological Macromolecules, 107: 2611-2619.
- Catier O., Roux D. (2007). Botanique pharmacognosie phytothérapie. Ed Wolters Kluwer, Pays-Bas. 141p.
- Christopher R., Nyandoro S.S., Chacha M., De Koning C.B. (2014). A new cinnamoylglycoflavonoid, antimycobacterial and antioxidant constituents from *Heritiera littoralis* leaf extracts. Natural Product Research.28(6): 351-358.
- Chung, D. (2002). Piezoresistive cement-based materials for strain sensing. Journal of Intelligent Material Systems and Structures, 13(9), 599-609.
- Claisse N. (2012). Préparation et modification d'oligosaccharides de cellulose par chimie douce bio-inspirée. Thèse de doctorat . Sciences agricoles. Université de Grenoble.France.309p.
- Dammak A., Ben Slima S., Gomes da Silva M., Ben Salah R., Aljuaid A., Hachicha W., Bouaziz M. (2022) . Antioxidant and antibacterial activities of a purified polysaccharide extracted from *Ceratonia siliqua* L. and its involvement in the enhancement performance of whipped cream. Separations, 9(5),117.



## Références Bibliographiques

---

- Debanjan M., Pinakpani D., Debalina S. R., Shauroseni P., Ipsita Ch., Shahnaz A., Sujata G.D. (2016). A Sensitive *In vitro* Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10 Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*. 6 :124-132.
- Délatre C. (2005). Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Doctoral dissertation, Amiens, 4-11p.
- Delgado A., Aperador W., Bautista Ruíz, J. (2011). Optical properties of lDpe films with different additives mixtures. *Ingeniería y ciencia*, 7(14) : 49-70.
- Du J., Cullen J.J., Buettner G.R. (2012). Ascorbic acid : chemistry, biology & the treatment of cancer. *Biochimica & Biophysica Acta (BBA)*, (1826) : 443-457.
- Dubois M., Gilles K, Hamilton J., Rebers P. Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars & related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3) : 350-356.
- Elleuch M., Besbes S., Roiseux O., Blecker C., Deroanne C., Drira N.E., & Hamadi, A. (2008). Date flesh : Chemical composition & characteristics of the dietary fibre. *Journal of Food Chemistry*. (111) : 676-682.
- Ellman G., Courtney K., Andres V., Featherston R. (1961). A new & rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* (7) : 88-95.
- Elyah A. (2003). Quel avenir pour la spiruline. Mémoire Bibliographique Université de Montpellier II, 3<sup>ème</sup> édition, 30p.
- Fondio L., Grubben., G. (2004). *Corchorus olitorius* L. In: Grubben, G, Denton O. PROTA 2: Végétales/Légumes. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Pays Bas.
- François N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité anti-oxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat en Chimie Organique. Paul Verlaine-Metz. 108p.
- Giro A. (2017). Double role of *Corchorus olitorius* (L.) cultivated in floating system: New leafy vegetable for “ready to eat” industry or active food for developing country. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 17(1) :277-285.
- Godin B., Agneessens R., Gofflot S., Lamaudière S., Sinnaeve G. Gerin P.A., Delcarte J. (2011). Revue bibliographique sur les méthodes d'analyse des polysaccharides structuraux des biomasses lignocellulosiques. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15 : 165-182.
- Herzog F. (1992). Etude biochimique et nutritionnelle des plantes alimentaires sauvages dans le Sud du V-Baoulé, Cote d'Ivoire. Thèse Doctoral dissertation, ETH Zurich., 134p.
- ISO 750. (1998). Determination of titratable activity: fruit & vegetable products (2nd edition). International Standard Organisation, Genève, Suisse. 1-4p.
- IUB-IUPAC, Joint commission on Biochemical Nomenclature (1980), *Journal of Biological Chemistry*, 257 :3352-3354.
- Kader F., Rovel B., Metche M. (1993). Role of invertase in sugar content in high bush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *LebensmittelWissenschaft & Technologie*, (26) : 593-595.
- Kagawa Y., Nishizawa M., Suzuki M., Miyatake T., Hamamoto T. (2007). Determination of some fatty acids in local plant seeds. *Chiang Mai Journal of Science*, 34: 249-252.
- Kahane R., Temple L., Brat P., Hubert B. (2005). Les légumes feuillés des pays tropicaux : diversité, richesse économique et valeur santé dans un contexte très fragile.

## Références Bibliographiques

---

- In Colloque: Agricultures et développement urbain en Afrique de l'Ouest et du Centre. L'Harmattan. Edition 3 :p14.
- Khalid H., Zhari I., Amirin S., Pazilah I. (2008). Analysis of proteins, polysaccharides, glycosaponins contents of *Piper sarmentosum* Roxb. & anti-TB evaluation for bio enhancing/interaction effects of leaf extracts with Isoniazid (INH). *Natural Product Radiance*, 7 : 402-408.
- Kiebre M., bationo kando P., Kiebre Z., Sawadogo M., Sawadogo N., Sawadogo B., Nanema R.K., Traore R.E. (2016). Evaluation agromorphologique d'accessions de corète potagère (*Corchorus olitorius* L) du Burkina Faso. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 1 (14) : 198-209.
- Kong F., Zhang M., Liao S., Yu S., Chi J., Wei Z. (2010). Antioxidant activity of polysaccharide-enriched fractions extracted from pulp tissue of *Litchi chinensis* Sonn. *Molecules*, 15 : 2152-2165.
- Krishnanand M., Himanshu O., Nabo K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review & results. *Food Chemistry* 130 p 1036–1043.
- Laïb S., Rederstorff E., Weiss P., Sourice S., Pilet P., Xie F., Siquin, C. (2011). An in vitro study of two GAG-like marine polysaccharides incorporate dinto injectable hydrogels for bone and cartilage tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 7(5) :2119-2130.
- Leong S., Oey I. (2012). Effect of endogenous ascorbic acid oxidase activity & stability on vitamin C in carrots (*Daucus carotasubsp. sativus*) during thermal treatment. *Food Chemistry*, 134: 2075-2085.
- Leung M.Y.K., Liu C., Koon J.C.M., Fung K.P. (2006). Polysaccharide biological response modifiers. *Immunology letters*, 105(2) : 101-114.
- Li B., Dobruchowskab J.M., Gerwigb G.J., Dijkhuizenb L., & Kamerlingb J.P.B. (2013). Structural investigation of water-soluble polysaccharides extracted from the fruit bodies of *Coprinus comatus*. *Carbohydrate Polymers*, 91: 314-321.
- Li J., Sun Q., Meng Q., Wang L., Xiong W., Zhang L. (2017). Anti-fatigue activity of polysaccharide fractions from *Lepidium meyenii* Walp. (maca). *International Journal of Biological Macromolecules*, 95 :1305–1311.
- Liu J., Willfor S., Xun C. (2015). A review of bioactive plant polysaccharides : Biological activities, functionalization, & biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates & Dietary Fibre*, 5 : 31-61.
- Liu Y., Fang S., Zhou M., Shang X., Yang W., Fu X. (2018). Geographic variation in water-soluble polysaccharide content and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* leaves. *Industrial Crops and Products*, 121: 180–186.
- Loumerem M., Alercia, A. (2016). Descriptors for jute (*Corchorus olitorius* L). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 63: 1103-1111.
- Mahbulul I. (2013). Biochemistry Medicinal and food values of jute (*Corchorus capsularis* L and *Corchorus olitorius*) . *International Journal of Enhanced*, 2(11), 135-144.
- Marc F., Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P., (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/Sciences*. 20 : 458-463.

## Références Bibliographiques

---

- Mohammed H., Abdallah H., Abdel Jaleel G., Mahmoud S., Yassin N., Djamel Din A., Bassyouni F. (2017). Phytochemical screening, gas chromatography-mass spectrometry analysis, and antidiabetic effects of *Corchorus olitorius* leaves in rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 8(A) : 385-394.
- Monsigny M., Petit C., Roche A., (1998). Colorimetric determination of neutral sugars by Sulphuric acid micromethod. *Analytical Biochemistry* (175): 525-530.
- Mzoughi H., Urom, C., Abid I., Brahim M. (2021). Green markets integration in different time scales : A regional analysis. *Energy Economics*, 98, 105254.
- NF V 05-113, (1972). Produits de l'agriculture fruits, légumes et leurs produits dérivés minéralisation des matières organiques par incinération. Homologuée par arrêté du 23-6-72 journal officiel du 30-6-72.
- Nie C., Zhu P., Ma S., Wang M., Hu Y. (2018). Purification, characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Stem lettuce*. *Carbohydrate polymers*.39(3):369-380.
- Nogaret-ehrhart E. (2003). La phytothérapie se soigner par la plante. Edition Eyrolles, Paris. 20p.
- Noubissié E. (2015). Spéciation des composés organométalliques (Hg, Sn, Pb) dans les sols des cultures maraîchères et dans trois espèces de plantes cultivées à Ngaoundéré (Cameroun). Doctoral dissertation Pau. Edition Eyrolles, 223p.
- Omokolo N ., Nankeua D., Niemenaka N., Djocgoue P. (2002). Analysis of aminoacids & carbohydrates in the cortex of nine clones of *Theobroma cacao* L. in relation to their susceptibility to *Phytophthora megakarya*. *Bra. & Grif. Crop Protection*. (2) : 395-402.
- Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reactions : antioxidative activities of Browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese journal of nutrition*, (44) : 307-315.
- Özdenefe M.S., Muhammed A., Süer K., Güler E., Aysun H., Takcı M. (2018). Determination of Antimicrobial Activity of *Corchorus olitorius* Leaf Extracts. *Cyprus Journal of Medical Sciences* 3(3) :159-163.
- Özyürek M., Nilay G ., Sefa B., Kubilay G., Reşat A. (2012). Development of a Silver Nanoparticle-Based Method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols, *Analytical Chemistry*. 84( 18) : 8052–8059
- Paterson A., Keller W., Somers, K., Dillon P., Heneberry J., Ford A. (2008). Relation ships between dissolved organiccarbon concentrations, weather, & acidification in small *Boreal Shield* lakes. *Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 65(5), 786-795.
- Patrice F. (2011). Structure des glucides, biochimie métabolique. ITCE de la faculté de médecine et de la pharmacie , Grenoble,43p.
- Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays *The journal of nutrition, health & aging* . 133: 2812-2819.
- Prat R., Mosiniak M., Roland J.C. (2002). Physiologie végétale. Biologie et multimédia, Université Pierre et Marie Curie, UFR de biologie : 984-988p.

## Références Bibliographiques

---

- Prior R.L., Wu X., Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4290-302.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med*, (26) : 1231-1237.
- Rjeibi I., Feriani A., Hentati F., Hfaiedh N., Michaud P., Pierre, G. (2019). Structural characterization of water-soluble polysaccharides from *Nitraria retusa* fruits and their antioxidant and hypolipidemic activities. *International Journal of Biological Macromolecules*. 47p.
- Ruiz G. (2005). Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat de l'université de Limoges : 256 p.
- Sáenz C., Sepúlveda E., Matsuhira B. (2004). *Opuntia* spp mucilage's : a functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments*, 57(3) : 275-290.
- Sandrine L.(2004).Diversite structurale et d'activite biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de légumineuses. Thèse de Doctorat. Université de Lyon. Paris.259p.
- Seddiki M., Boual Z., Michaud P., Ould el hadj M. (2017). Extraction et caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles de feuilles de l'espèce de *Zygophyllum album* l. récoltée au Sahara algérien. Séminaire International des Polysaccharides de plantes de milieux arides, 44-52.
- Simopoulos A., Sidossis L. (2013). What is special about the traditional diet of Greece. The scientific evidence, *World review of Nutrition & Dietetics*, 24-42p.
- Singthonga J., Ningsanonda S., Cuib S., Goffc H. (2005). Extraction and physicochemical characterization of Krueo Ma Noypectin. *Food Hydrocolloids*, 19 :793-801.
- Soro C., Ocho-anin A., Armand K., Christophe K. (2012). Evaluation de la composition nutritionnelle des légumes feuilles. *Journal of Applied Bioscience*, 51: 3567-3573.
- Soua L., Koubaa M., Barba F., Fakhfakh J., Ghamgui H., Chaabouni S. (2020). Water-soluble polysaccharides from *Ephedra alata* stems : Structural characterization, functional properties, and antioxidant activity. *Molecules*, 25(9), 2210.
- Stephen, A.M., Churms, S.C., (1995). Starch: Structure, Analysis, and Application . In :«Polysaccharides and Their Applications».2ème ed. France : CRC Press ,Pp : 25-87.
- Szydłowska-czerniaka A., Dianoczki C., Recseg K., Karlovits G., Szlyk E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76; 899-905.
- Tchiégang C., Kitkil A. (2004). Données ethno-nutritionnelles et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicultura*, 1 : 11-18.
- Théo E., Christian N. (2008). Article Analyse des polysaccharides. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(4) :p33.
- Toor R., Savage G. (2006). Effect of semi-drying on the antioxidant components of tomatoes. *Food Chemistry Journal*, 94:90–97.

## Références Bibliographiques

---

- Wang M., Jiang C., MA L., Zhang Z., Cao I. Liu J., Zeng X. (2013). Preparation, preliminary characterization & immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from the peduncles of *Hoveni dulcis*. Food Chemistry., 138 (1) :41–47.
- Wu GH., Hu T. (2014). In vitro antioxidant activities of the polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing. Food Chemistry, 148 : 351-356.
- Wu Y., Cui S.W., Tang J., Wang Q., & Gu X. (2007). Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited *Sterculia* seeds. Carbohydrate Polymers, 70: 437-443.
- Xiao M. (2011). Synthèse des dérivées des polysaccharides modifiés hydrophobement. Thèse de doctoras ,Sciences des polymères .Université de Grenoble. France. 148p.
- Xiao R., Grinstaff M.( 2017).artiel chemical synthesisof Polysaccharides and Polysaccharide Mimetics.Progress in Polymer Science. Accepted Manuscript , P3.
- Yemm E., Cocking E. (1955). The determination of amino acids with ninhydrine. Analyst. (80): 209-213.
- Yong J., Shin J., Young S., Yeon S., Hyun O., Dong K.,Suhkneung P. (2009). Immunostimulating effects of acidic polysaccharides extract of *Panax ginseng* on macrophage function. Immunopharmacology and immuno toxicology, 24(3) : 469-482.
- Zou Y., Zhang B., Barsett H., Inngjerdingen K ., Diallo D., Michaelsen T., Paulsen B. (2014). Complement Fixing Polysaccharides from *Terminalia macroptera* Root Bark, Stem Bark & Leaves. Molécules, 19 : 7440-7458.

---

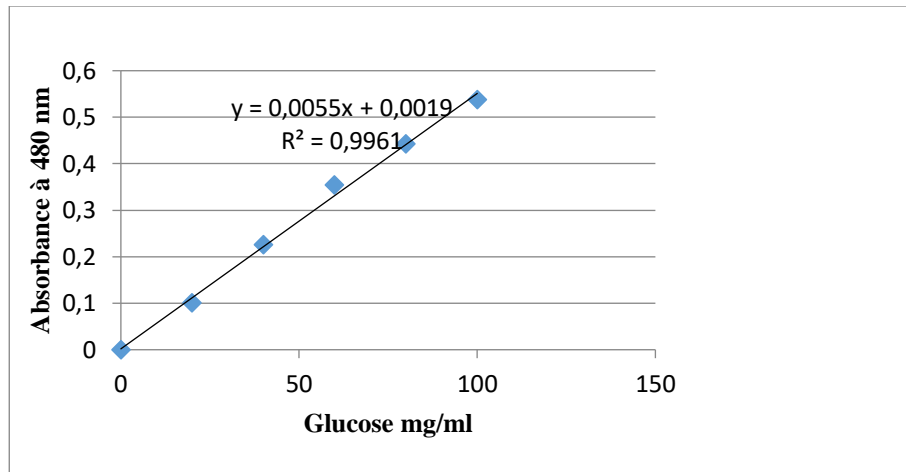
---

# **Annexes**

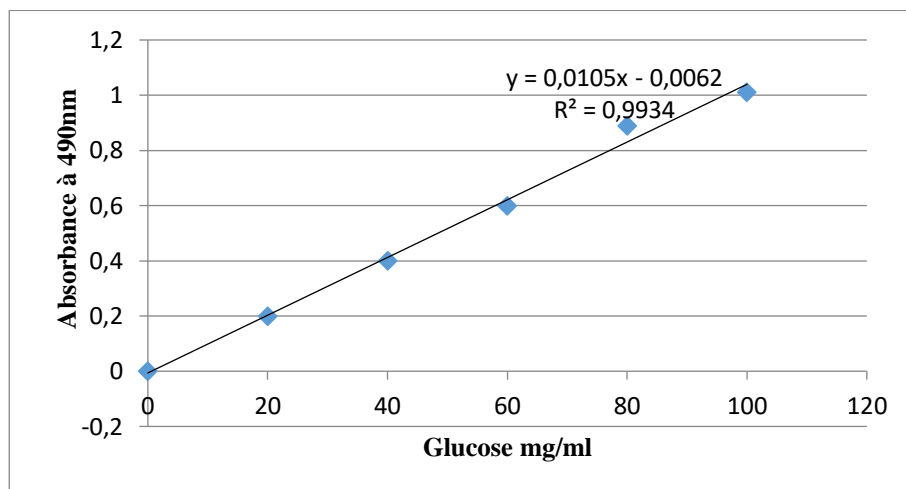
---

---

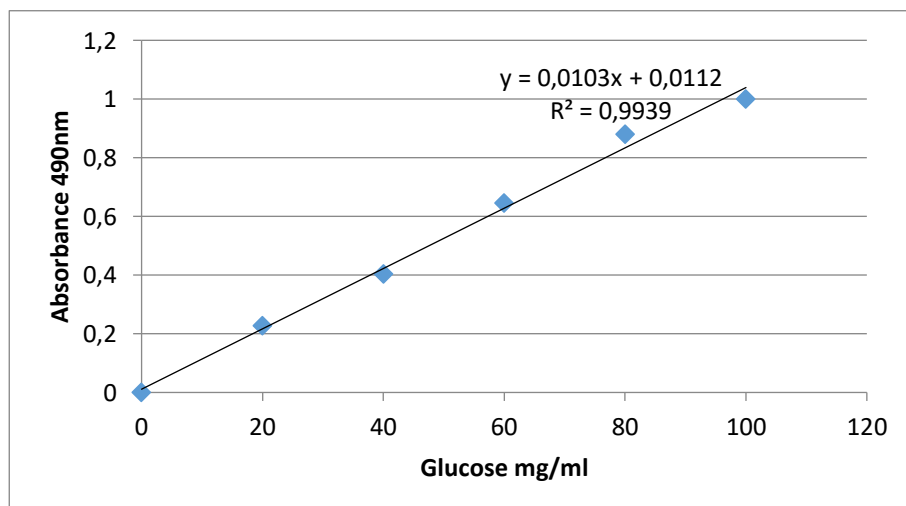
## Annexe 01 :



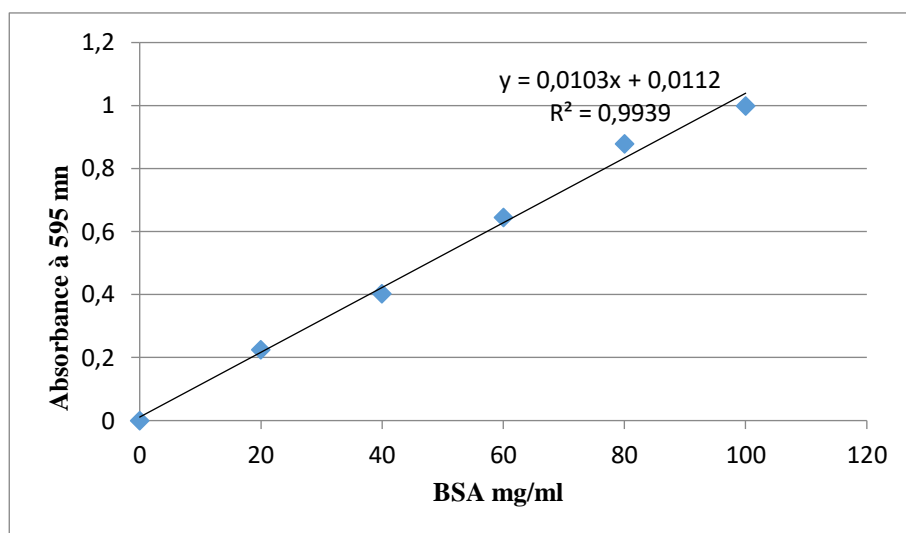
Courbe d'étalonnage des oses neutres



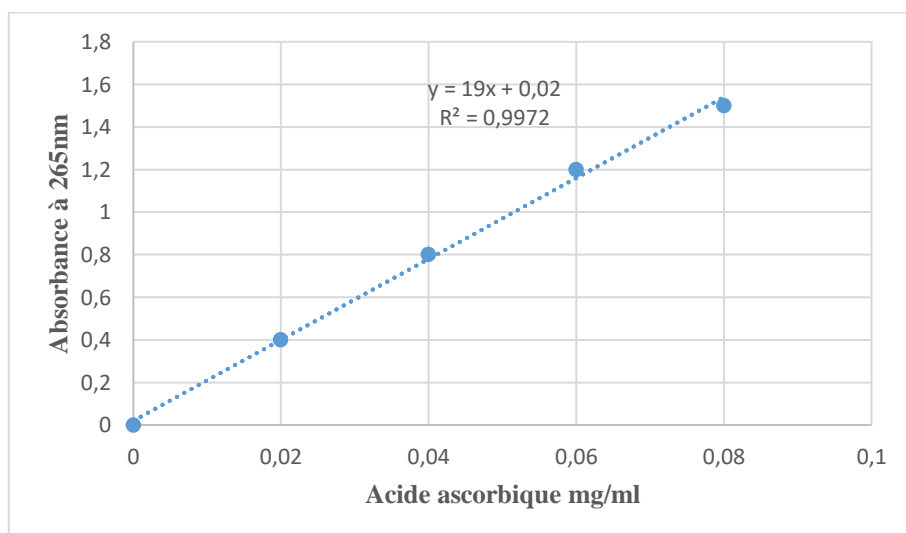
Courbe d'étalonnage des oses solubles



Courbe d'étalonnage des oses totaux



**Courbe d'étalonnage des protéines**



**Courbe d'étalonnage de la vitamine C**



## Annexes 02

Tableaux 01 : Inhibition du radical DPPH.

| Concentration<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | % Inhibition     |                   |                  |                   |                   |                  |                                      |
|---------------------------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|--------------------------------------|
|                                       | 6,25             | 12,5              | 25               | 50                | 100               | 200              | IC <sub>50</sub><br>$\mu\text{g/ml}$ |
| <b>EBPOLY(E1)</b>                     | 30,75 $\pm$ 0.04 | 40,61 $\pm$ 0.018 | 55,7 $\pm$ 0.036 | 71,17 $\pm$ 0.019 | 76,98 $\pm$ 0.068 | 79,3 $\pm$ 0.061 | <b>25.2<math>\pm</math>0,19</b>      |
| <b>BHT</b>                            | 22,21 $\pm$ 1.30 | 37,12 $\pm$ 1.8   | 52,63 $\pm$ 2.70 | 56,02 $\pm$ 0.53  | 83,6 $\pm$ 0.23   | 87,28 $\pm$ 0.26 | <b>22.32<math>\pm</math>1.19</b>     |
| <b>BHA</b>                            | 54,33 $\pm$ 1.59 | 76,76 $\pm$ 1.65  | 84,09 $\pm$ 0.35 | 87,53 $\pm$ 0.82  | 87,73 $\pm$ 0.15  | 88,43 $\pm$ 0.23 | <b>5.73<math>\pm</math>0.41</b>      |

Tableaux 02 : Réduction du fer par la méthode FRAP.

|                         | 3.125               | 6.25                | 12.5                | 25                  | 50                  | 100                 | 200                 | A <sub>0,5</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|-------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------------------------|
| <b>EBPOLY (E1)</b>      | NA                  | NA                  | 0,14 $\pm$ 0,0<br>4 | 0,16 $\pm$ 0,0<br>2 | 0,22 $\pm$ 0,0<br>5 | 0,55 $\pm$ 0,0<br>8 | 0,65 $\pm$ 0,1<br>1 | 99,67 $\pm$ 0,2<br>4                  |
|                         | <b>0.0976</b>       | <b>0.195</b>        | <b>0.390</b>        | <b>0.781</b>        | <b>1.562</b>        | <b>3.125</b>        | <b>6.25</b>         | A <sub>0,5</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
| <b>Trolox</b>           | 0,07 $\pm$ 0,0<br>0 | 0,08 $\pm$ 0,0<br>0 | 0,09 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,13 $\pm$ 0,0<br>0 | 0,19 $\pm$ 0,0<br>2 | 0,28 $\pm$ 0,0<br>5 | 0,60 $\pm$ 0,0<br>4 | 5,25 $\pm$ 0,20                       |
| <b>Acide Ascorbique</b> | 0,07 $\pm$ 0,0<br>0 | 0,09 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,12 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,17 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,25 $\pm$ 0,0<br>2 | 0,47 $\pm$ 0,0<br>3 | 0,79 $\pm$ 0,0<br>9 | 3,62 $\pm$ 0,29                       |

Tableaux 03 : Réduction du fer par la méthode phénanthroline.

|                         | 3.125               | 6.25                | 12.5                | 25                  | 50                  | 100                 | 200                 | A <sub>0,5</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|-------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------------------------|
| <b>EBPOLY (E1)</b>      | 0,41 $\pm$ 0,<br>11 | 0,42 $\pm$ 0,0<br>2 | 0,54 $\pm$ 0,0<br>4 | 0,64 $\pm$ 0,1<br>1 | 0,78 $\pm$ 0,1<br>1 | 0,86 $\pm$ 0,2<br>8 | 1,62 $\pm$ 0,2<br>0 | 10,52 $\pm$ 1,1<br>1                  |
|                         | <b>0.0976</b>       | <b>0.195</b>        | <b>0.390</b>        | <b>0.781</b>        | <b>1.562</b>        | <b>3.125</b>        | <b>6.25</b>         | A <sub>0,5</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
| <b>Trolox</b>           | 0,25 $\pm$ 0,<br>01 | 0,24 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,26 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,26 $\pm$ 0,0<br>0 | 0,32 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,38 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,56 $\pm$ 0,0<br>2 | 5,21 $\pm$ 0,27                       |
| <b>Acide Ascorbique</b> | 0,26 $\pm$ 0,<br>01 | 0,29 $\pm$ 0,0<br>0 | 0,29 $\pm$ 0,0<br>2 | 0,31 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,37 $\pm$ 0,0<br>1 | 0,50 $\pm$ 0,0<br>0 | 0,80 $\pm$ 0,0<br>0 | 3,08 $\pm$ 0,02                       |

Tableaux 04 : Inhibition du cation radical ABTS

|                         | 12.5                | 25                   | 50                   | 100                  | 200                  | 400                  | 800                  | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|-------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--|
| <b>EBPOLY (E1)</b>      | 11,01 $\pm$<br>5,44 | 19,29 $\pm$ 1,<br>42 | 21,65 $\pm$ 0,<br>93 | 30,54 $\pm$ 2,<br>09 | 40,99 $\pm$ 4,<br>25 | 61,41 $\pm$ 4,<br>54 | Sat                  | 314,96 $\pm$ 1,<br>15                    |
|                         | <b>0.7812<br/>5</b> | <b>1.5625</b>        | <b>3.125</b>         | <b>6.25</b>          | <b>12.5</b>          | <b>25</b>            | <b>50</b>            | IC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{g/ml}$ ) |
| <b>Trolox</b>           | 14,74 $\pm$<br>0,37 | 26,15 $\pm$ 0,<br>65 | 51,70 $\pm$ 1,<br>51 | 89,72 $\pm$ 0,<br>67 | 92,89 $\pm$ 0,<br>19 | 92,89 $\pm$ 0,<br>19 | 91,84 $\pm$ 1,<br>19 | 3,21 $\pm$ 0,06                          |
| <b>Acide Ascorbique</b> | 13,43 $\pm$<br>0,82 | 28,76 $\pm$ 0,<br>67 | 52,94 $\pm$ 0,<br>94 | 93,21 $\pm$ 0,<br>11 | 93,08 $\pm$ 0,<br>19 | 92,40 $\pm$ 0,<br>88 | 92,96 $\pm$ 0,<br>11 | 3,04 $\pm$ 0,05                          |

**Tableaux 05 : Activité des nanoparticules d'argent (SNP)**

|                         | <b>6.25</b>   | <b>12.5</b>   | <b>25</b>      | <b>50</b>     | <b>100</b>    | <b>200</b>    | <b>400</b>    | <b>A<sub>0,5</sub>(µg/ml)</b> |
|-------------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------------------------|
| <b>EBPOLY (E1)</b>      | NA            | 0,11±0,0<br>2 | 0,17±0,0<br>06 | 0,20±0,0<br>3 | 0,22±0,0<br>4 | 0,29±0,0<br>2 | 0,47±0,0<br>3 | >400                          |
|                         | <b>1.5625</b> | <b>3.125</b>  | <b>6.25</b>    | <b>12.5</b>   | <b>25</b>     | <b>50</b>     | <b>100</b>    | <b>A<sub>0,5</sub>(µg/ml)</b> |
| <b>Acide Ascorbique</b> | 0.24±0.00     | 0.32±0.01     | 0.45±0.01      | 0.75±0.01     | 1.22±0.02     | 1.90±0.03     | 2.35±0.01     | 7.14±0.05                     |
| <b>Trolox</b>           | 0.17±0.00     | 0.20±0.01     | 0.23±0.00      | 0.30±0.01     | 0.43±0.01     | 0.64±0.03     | 1.04±0.01     | 34.17±1.23                    |

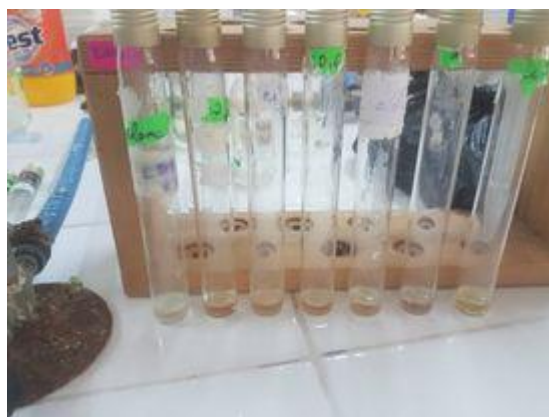
Annexes 03



**Figure 01 :** Extrait brut de polysaccharides des feuilles de *C. olitorius* L



**Figure 02 :** Résultat du dosage des sucres neutres.



**Figure 03 :** Résultat du dosage des sucres totaux.



**Figure 04 :** Résultat du dosage des sucres solubles.



**Figure 05 :** Résultat du dosage des protéines.



**Figure 06 :** Résultatde la tenure en pectin.



## Résumé

*C. olitorius* L de la famille *Tiliacées* est une plante alimentaire et médicinale satisfaisante. Cette plante est herbacée saisonnière cultivée en saison pluvieuse. Mais elle existe également sur les marchés durant toute l'année. Les travaux présentés dans cette étude contribuent à évaluer les différents paramètres physicochimiques, les compositions nutritionnelles ainsi que les activités de polysaccharides des feuilles de *C. olitorius* L. L'extrait brut des polysaccharides hydrosoluble obtenu à partir d'une macération de la poudre des feuilles à l'eau chaude de 80°C pendant 2 h donne un rendement de 8,2%. Les résultats obtenus des paramètres physicochimiques sont, le pH (de 7,9±0,02%), l'acidité titrable (de 8±0,04%), humidité (de 43,5±0,003%), matière sèche (de 56,5±0,003%), cendre (de 16±0,028%), matière organique (de 84±0,028%), pectine (de 8,2±0,05%). L'étude des compositions nutritionnelles montrent que les protéines (de 20,9±0,002mgEBSA /100g) des protéines, la teneur en sucres solubles (de 252± 0,004mgEGLU/100g, les oses neutres (de 89,6± 0,01mgEGLU/100g), la teneur en sucres totaux (de 52,4±0,006mgEGLU/100g) et la vitamine C (de 0,018mg/100g). Les données expérimentales ont montré une faible activité anti-oxydante par les tests ABTS (IC<sub>50</sub>= 314,96 ±11,15µg/ml) et SNP (A<sub>0,5</sub>= >400µg/ml). L'évaluation du pouvoir réducteur du fer par la méthode phenanthroline a révélé que l'extrait étudié était le plus actif (A<sub>0,5</sub>=10,52±1,11µg/ml). Ce résultat est en accord avec celui obtenu par la méthode FRAP (A<sub>0,5</sub>=99,61±0,24µg/ml) et le test DPPH (IC<sub>50</sub>=25± 0,19µg/ml), ainsi que l'absence d'activité Anti-acétylcholinestérase dans l'extrait brut des polysaccharides. L'évaluation *in-vitro* de l'extrait brut des polysaccharides a indiqué qu'il peut être utilisé largement dans l'industrie agroalimentaire.

**Mots clés :** *C. olitorius* L, Polysaccharides, Métabolites secondaires, Activité anti-oxydante.

## المخلص:

يعتبر *C. olitorius* L من عائلة Tiliaceae نباتاً غذائياً وطيباً. هذا النبات هو نبات عشبي موسمي ينمو في موسم الأمطار. ولكنه موجود أيضاً في الأسواق على مدار العام. يساهم العمل المقدم في هذه الدراسة في تقييم المعلمات الفيزيائية والكيميائية المختلفة والتركيبات الغذائية وكذلك أنشطة السكريد لأوراق *C. olitorius* L. يعطي المستخلص الخام للسكريات القابلة للذوبان في الماء التي تم الحصول عليها من نقع مسحوق الأوراق في الماء الساخن عند 80 درجة مئوية لمدة ساعتين عانداً بنسبة 8.2٪. النتائج التي تم الحصول عليها من المعلمات الفيزيائية والكيميائية هي، الأس الهيدروجيني (بنسبة 7.9 ± 0.02٪)، الحموضة القابلة للمعايرة (بنسبة 8 ± 0.04٪)، الرطوبة (بنسبة 43.5 ± 0.003٪)، المادة الجافة (56.5 ± 0.003٪)، الرماد (16 ± 0.028٪)، المواد عضوية (84 ± 0.028٪)، بكتين (8.2 ± 0.05٪). تظهر دراسة التركيبات الغذائية أن البروتينات (من 20.9 ± 0.002 mgEBSA / غ 100 ملغ) من البروتينات، محتوى السكريات القابلة للذوبان (من 252 ± 0.004 mgEGLU / ملغ 100 غ)، السكريات المعتدلة (من 89.6 ± 0.01 mgEGLU / ملغ 100 غ)، إجمالي محتوى السكر (52.4 ± 0.006 mgEGLU / ملغ 100 غ) و فيتامين ج (0.018 mg / 100 غ). أظهرت البيانات التجريبية نشاطاً منخفضاً لمضادات الأوكسدة بواسطة اختبار ABTS (ميكروغرام / مل 314.96 ± 11.15) و اختبار SNP (A<sub>0,5</sub> = >400 ميكروغرام / مل). أظهر تقييم القدرة المختزلة للحديد بطريقة الفينانثرولين أن المستخلص المدروس كان الأكثر نشاطاً (ميكروغرام / مل 10.52 ± 1.11). تتوافق هذه النتيجة مع تلك التي تم الحصول عليها بواسطة طريقة FRAP (ميكروغرام / مل 99.61 ± 0.24) واختبار DPPH (IC<sub>50</sub> = 25 ± 0.19) وأشار التقييم المختبري لمستخلص عديد السكريد الخام إلى أنه يمكن استخدامه على نطاق واسع في صناعة المواد الغذائية.

**الكلمات المفتاحية:** *C. olitorius* L، السكريات، الايض الثانوي، النشاط المضاد للأوكسدة.

## Abstract

*C. olitorius* L of the Tiliaceae family is a satisfactory food and medicinal plant. This plant is a seasonal herbaceous plant grown in the rainy season. But it also exists on the markets throughout the year. The work presented in this study contributes to evaluating the different physicochemical parameters, the nutritional compositions as well as the polysaccharide activities of the leaves of *C. olitorius* L. The crude extract of water-soluble polysaccharides obtained from maceration of the leaf powder in hot water at 80°C for 2 hours gives a yield of 8.2%. The results obtained from the physicochemical parameters are, pH (by 7.9±0.02%), titratable acidity (by 8±0.04%), humidity (by 43.5±0.003%), matter dry (56.5±0.003%), ash (16±0.028%), organic matter (84±0.028%), pectin (8.2±0.05%). The study of the nutritional compositions show that the proteins (from 20.9 ± 0.002mgEBSA / 100g) of the proteins, the content of soluble sugars (from 252 ± 0.004mgEGLU / 100g, the neutral oses (from 89.6 ± 0.01mgEGLU / 100g), total sugar content (52.4±0.006mgEGLU/100g) and vitamin C (0.018mg/100g). Experimental data showed low antioxidant activity by ABTS (IC<sub>50</sub>= 314.96±11.15µg/ml) and SNP (A<sub>0.5</sub>= >400µg/ml) tests. Evaluation of the reducing power of iron by the phenanthroline method revealed that the extract studied was the most active (A<sub>0.5</sub>=10.52±1.11µg/ml). This result is in agreement with that obtained by the FRAP method (A<sub>0.5</sub>=99.61±0.24µg/ml) and the DPPH test (IC<sub>50</sub>=25±0.19µg/ml), as well as the absence of Anti-acetylcholinesterase activity in crude extract of polysaccharides. In-vitro evaluation of the crude polysaccharide extract indicated that it can be widely used in the food industry.

**Keywords :** *C. olitorius* L, polysaccharides, secondary metabolites, antioxidant activity.